Beeinflussung der Kupfertoleranz beim Mastkalb durch Zusätze verschiedener Spurenelemente, Mineralstoffe und DL-Penicillamin zum Milchaustauscher

Karl-Heinz Maier

1979

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische
Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. J. Gropp

BEEINFLUSSUNG DER KUPFERTOLERANZ BEIM MASTKALB DURCH ZUSÄTZE VERSCHIEDENER SPURENELEMENTE, MINERALSTOFFE UND DL-PENICILLAMIN ZUM MILCHAUSTAUSCHER

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

KARL-HEINZ MAIER

aus

DEGGENDORF

München 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich

Referent: Prof. Dr. J. Gropp

Korreferent: Prof. Dr. A. Schmid

Tag der Promotion: 27. Juli 1979

Druck: Dissertationsdruck Novotny jr., Starnberg

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG Seite 1

2. LITERATURÜBERSICHT Seite 4

2.1. Kupfervergiftung Seite 4

2.1.1. Verlauf der chronischen Kupfervergiftung Seite 7

2.1.2. Befunde bei der chronischen Kupfervergiftung Seite 11

2.1.3. Zur akuten Kupfervergiftung Seite 15

2.2. Kupfer-Interaktionen Seite 16

2.2.1. Kupfer-Molybdän-Schwefel Seite 16

2.2.2. Kupfer-Eisen Seite 28

2.2.3. Kupfer-Calcium Seite 33

2.3. D-Penicillamin Seite 35

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN Seite 38

3.1. Analytik Seite 38

3.1.1. Eisenanalyse im Serum Seite 38

3.1.2. Kupferanalyse im Serum Seite 45

3.1.3. Calciumanalyse im Serum Seite 50

3.1.4. Analyse der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (E.C. 2.6.1.1.) im Serum Seite 53

3.1.5. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (E.C. 2.6.1.2.) im Serum Seite 55

3.1.6. Bilirubin im Serum Seite 58

3.1.7. Hämoglobin im Blut Seite 61

3.1.8. Eisenanalyse in Asche Seite 63

3.1.9. Kupferbestimmung in der Asche Seite 67

3.1.10. Kupfer-und Eisenbestimmung in den Organen Seite 68
3.2. Versuch I Seite 69
3.2.1. Versuchsanlage Seite 69
3.2.2. Versuchstiere Seite 72
3.2.3. Fütterung der Versuchstiere Seite 73
3.2.4. Versuchskriterien Seite 76
3.2.5. Ergebnisse Seite 77
3.2.5.1. Milchaustauscheranalysen Seite 77
3.2.5.2. Lebendmasse und Gewichtsentwicklung Seite 81
3.2.5.3. Blutuntersuchungen Seite 89
3.2.5.3.1. Serumkupfer Seite 89
3.2.5.3.2. Serumeisen und Hämoglobin Seite 92
3.2.5.3.3. Serumcalcium Seite 97
3.2.5.3.4. Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase Seite 99
3.2.5.3.5. Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase Seite 103
3.2.5.3.6. Gesamtbilirubin im Serum Seite 106
3.2.5.4. Untersuchungen der Lebertrockensubstanz auf Eisen- und Kupfergehalt Seite 109
3.3. Versuch II Seite 113
3.3.1. Versuchsanlage Seite 113
3.3.2. Versuchstiere Seite 115
3.3.3. Fütterung der Versuchstiere Seite 115
3.3.4. Versuchskriterien Seite 116
3.3.5. Ergebnisse Seite 117

3.3.5.1. Milchaustauscheranalysen Seite 117
3.3.5.2. Lebendmasse und Gewichtsentwicklung Seite 118
3.3.5.3. Blutuntersuchungen Seite 120
3.3.5.3.1. Serumkupfer Seite 120
3.3.5.3.2. Hämoglobinwerte im Blut Seite 122
3.3.5.3.3. Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase Seite 124
3.3.5.3.4. Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase Seite 124
3.3.5.4. Untersuchung der Lebertrockensubstanz auf Kupfergehalt Seite 128
3.4. Versuch III Seite 132
3.4.1. Versuchsanlage Seite 132
3.4.2. Versuchstiere Seite 134
3.4.3. Fütterung der Versuchstiere Seite 135
3.4.4. Versuchskriterien Seite 136
3.4.5. Ergebnisse Seite 136
3.4.5.1. Milchaustauscheranalysen Seite 136
3.4.5.2. Lebendmasse und Gewichtsentwicklung Seite 137
3.4.5.3. Blutuntersuchungen Seite 139
3.4.5.3.1. Serumkupferwerte Seite 139
3.4.5.3.2. Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase Seite 141
3.4.5.3.3. Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase Seite 143
3.4.5.4. Untersuchung der Lebertrockensubstanz Seite 145
3.4.5.5. Untersuchung der Gehirntrockensubstanz Seite 145

3.4.5.6. Untersuchung der Nierentrockensubstanz Seite 146

4. DISKUSSION Seite 148

4.1. Parameter der Kupfervergiftung Seite 148

4.1.1. Bestimmung des Serum-Kupfergehaltes Seite 148

4.1.2. Bestimmung des Serum-Eisengehaltes Seite 149

4.1.3. Bestimmung der Serum-Transaminasen Seite 150

4.1.4. Bestimmung des Cu-Gehaltes in der Leber Seite 150

4.2. Kupfer-Kumulation im Futter und Eintritt der Kupfervergiftung Seite 151

4.3. Beeinflussung der Cu-Vergiftung durch Molybdän, Sulfat, Eisen und Calcium Seite 151

4.4. Beeinflussung der Cu-Vergiftung durch DL-Penicillamin Seite 155

5. ZUSAMMENFASSUNG Seite 159

6. SUMMARY Seite 162

1. EINLEITUNG

Seit Jahrzehnten sind bei landwirtschaftlichen Nutztieren Krankheitsfälle bekannt, denen als Ursache chronische Kupfervergiftungen zu Grunde liegen. Gekennzeichnet sind die Erkrankungen durch Ikterus, Methämoglobinämie und Leberdystrophie bzw. Leberzirrhose. Grundlegende experimentelle Untersuchungen über die Pathogenese der chronischen Kupfervergiftung des Kalbes wurden von WEISS und BAUR durchgeführt (1967). Diese Untersuchungen zeigen, daß der Verlauf der chronischen Kupfervergiftungen in zwei Abschnitte zu unterteilen ist: die "praehämolytische" Phase, während der es zu einer verstärkten Kupfereinlagerung in die Leber kommt, und die "hämolytische" Phase, die mit einem Zerfall der Leberzellen und Erythrozyten und einer erhöhten Kupferkonzentration im Blutplasma einhergeht.

WEISS und BAUR zeigen in ihren Experimenten auch, daß Kupferkonzentrationen von 50 ppm und mehr bezogen auf Milchaustauschertrockensubstanz für Kälber toxisch sind.
Unterschiedlich ist die Kupferverträglichkeit zwischen den einzelnen Tierarten. Während die toxische Dosis bei Schafen und Kälbern relativ niedrig liegt, ver-

tragen erwachsene Rinder (sowie Schweine) weit höhere Cu-Dosen über längere Zeiträume.
Für die praktische Fütterung ist heute vor allem von Bedeutung, ob durch Futterzusätze anderer Elemente der Kupferstoffwechsel zu beeinflussen ist. Hier bewirkten beim Schaf vor allem Molybdän- und Schwefelzusätze deutliche Rückgänge der Kupferspeicherung in der Leber.
Erfahrungen aus der Humanmedizin bei der Behandlung des Morbus Wilson mit D-Penicillamin bieten sich auch für die Therapie in der Tiermedizin bei akuten und chronischen Kupfervergiftungen an. D-Penicillamin bewirkt eine starke Steigerung der Cu-Ausscheidung im Harn und damit eine Cu-Ausschwemmung aus den betroffenen Organen.
Zur Feststellung möglicher prophylaktischer bzw. therapeutischer Maßnahmen gegen die Kupferintoxikation beim Kalb wurden 3 Tierversuche durchgeführt.
Ziel der Untersuchungen war es festzustellen,

1) ob der Zusatz von verschiedenen Spurenelementen, Mineralstoffen oder Penicillamin zum Milchaustauscher mit einem toxischen Cu-Gehalt die Ausbildung der Cu-Intoxikation beeinflußt,
2) ob durch Verabreichung von DL-Penicillamin an

bereits vergiftete Tiere eine Therapiemöglichkeit gegeben ist,

3) ob klinische Symptome bzw. klinisch-chemische Befunde den Eintritt der hämolytischen Krise so rechtzeitig anzeigen, daß eine erfolgversprechende Therapie noch möglich erscheint.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Kupfervergiftung

Das wissenschaftliche Interesse an Verlauf und Symptomatik von Kupfervergiftungen bei landwirtschaftlichen Nutztieren besteht schon seit geraumer Zeit.
Nach CASE (1974) stammt eine der ersten diesbezüglichen Übersichtsarbeiten bereits aus dem Jahre 1934 .

In der einschlägigen Literatur werden für die auch heute noch aktuelle Beschäftigung mit dieser Thematik eine Reihe von Gründen genannt:

1. Hinsichtlich der Kupferverträglichkeit bestehen von Tierart zu Tierart erhebliche Unterschiede (HILL,1977). So kann die toxische Dosis für das Schaf nach BEHRENS (1977) bereits bei 12 mg Cu/kg Futter liegen. Erwachsene Rinder vertragen dagegen weit höhere Cu-Dosen über längere Zeiträume. Einer zusammenfassenden Darstellung von TODD (1969) zufolge wurden an Mastbullen bis zu 8 g Kupfersulfat/Tag oral (in Gelatine-Kapseln) zwölf Monate lang verabreicht. Vergiftungserscheinungen konnten zu keinem Zeitpunkt des Versuches beobachtet werden.
In einer der neuesten Literaturübersichten zur

Kupfervergiftung von HILL (1977) wird allerdings ausdrücklich daraufhingewiesen, daß Kälber bei Milchaustauscherernährung bereits im Bereich 50 - 100 mg Cu/kg Futter zu Tode kommen können. Beim Schwein werden im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Schafen und Kälbern bis zu 250 mg Cu/kg Futter als Wachstumsstimulans eingesetzt (HAPKE,1975).

2. Die potentiellen Ursachen für meist chronisch verlaufende Kupfervergiftungen sind in der Landwirtschaft auch heute noch weltweit gegeben. Durch Verfütterung von Mischfutter für Rinder oder Schweine an Schafe kommt es immer wieder einmal zu Zwischenfällen. Auch die Verabreichung kupferreicher Mineralstoffmischungen für Rinder an Schafe und Kälber hat wiederholt zu Cu-Intoxikationen geführt (BRENNER,1975).

Über Kupfermangel bei Rindern wird aus Neu-Seeland, Australien, Irland und England berichtet. In Verbindung hiermit kann die Applikation kupferhaltiger Injektionslösungen zu Todesfällen durch akute Kupfervergiftung führen (MYLREA und BYRNE,1974).

Neuerdings gewinnt das Problem des Einsatzes unter Umständen stark kupferhaltiger Schweinegülle an Bedeutung. Nach HILL (1977) kann der Kupfergehalt bis zu 675 mg/kg TS betragen.
Wie die folgende Tabelle zeigt, kann die Ausbringung

derartiger Abfallprodukte aus der modernen Schweinehaltung einen deutlichen Einfluß auf den Kupfergehalt des Weidegrases haben.

Tab. 1: Einfluß einer Schweinegülle-Düngung auf den Kupfergehalt von Weidegras (n.HILL,1977)

Gülledüngung	Cu-Gehalt des Weidegrases (Mittelwerte,mg/kg TS)
keine	9.1
56 000 l/ha	17.7
112 000 l/ha	21.1

3. Eine Reihe von Futterinhaltstoffen üben eine gewisse Schutzwirkung gegenüber zu hohen Kupfergehalten aus. Am bekanntesten sind die Kupferantagonisten Molybdän und Schwefel geworden (BRENNER und GÜRTLER,1977). Aber auch Calcium- und Eisenzulagen vermögen die negativen Auswirkungen analytisch bereits bedenklicher Cu-Konzentrationen im Futter unter Umständen abzuschwächen (UNDERWOOD,1971).

2.1.1. Verlauf der chronischen Kupfervergiftung

Die chronische Kupfervergiftung verläuft bei Schafen und Kälbern in zwei deutlich voneinander zu unterscheidenden Abschnitten. Während der ersten " praehaemolytischen " Phase kommt es zu verstärkter Kupfereinlagerung vor allem in die Leber, aber auch in die Niere. Bis vor kurzem wurde dieser Zeitabschnitt als Phase vor allem passiver Kupferakkumulierung angesehen. Dies trifft aber nach HOWELL (1978) nicht zu. Auch während der praehaemolytischen Phase - bei der klinisch manifeste Krankheitserscheinungen in der Regel noch fehlen - lassen sich bereits histologische und histochemische Veränderungen an Leber- und Nierenzellen nachweisen. Nach THOMPSON und TODD (1974) beginnt auch die Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) als Anzeichen einer Leberschädigung im Blutserum von Schafen bereits drei Wochen vor Auftreten von Krankheitserscheinungen deutlich anzusteigen.

Die zweite Phase der chronischen Kupfervergiftung wird auch als " haemolytische Krise " oder " Haemolyse " bezeichnet. Sie setzt ein, wenn Leberzellen in größerem Umfang als bisher zugrundegehen und das in ihnen zuvor gespeicherte Kupfer in die Blut-

zirkulation gelangt. Zu diesem Zeitpunkt erfolgt ein markanter Anstieg der Cu-Konzentration im Blutplasma. In Untersuchungen von ISHMAEL et al. (1972) betrug die Cu-Konzentration im Blutplasma von experimentell mit Kupfer vergifteten Schafen während der praehaemolytischen Phase 80 - 100 mcg/1oo ml. Mit Einsetzen der haemolytischen Krise stiegen die Werte bis auf maximal 6oo mcg/100 ml an.
Es bleibt also festzuhalten , daß während der ersten Phase der Kupfervergiftung die Cu-Konzentration in der Leber deutlich ansteigt , während die Werte im Blutplasma hier noch mehr oder weniger konstant bleiben.
Diese Feststellung deckt sich mit den Befunden von CLAYPOOL et al. (1975). Nach Untersuchungen an 540 klinisch gesunden Rindern kommen die Autoren zu dem Ergebnis, daß eine positive, lineare Beziehung zwischen der Cu-Konzentration im Blutplasma und dem Cu-Gehalt der Leber nur im unteren Bereich von 20 - 90 mcg Cu/100 ml Plasma und 4 - 80 mg Cu/kg Leber-TS besteht. Oberhalb 80 mg Cu/kg Leber-TS (bis 500 mg Cu/kg Leber-TS) verläuft die Cu-Konzentration im Blutplasma als Parallele zur X-Achse (= Cu in der Leber).
Das während der haemolytischen Krise aus der Leber

freigesetzte Kupfer dringt in die Erythrozyten ein und zerstört einen Teil von ihnen. Von ISHMAEL et al. (1972) wurde in diesem Zusammenhang ein Anstieg des Kupfergehaltes der roten Blutzellen von durchschnittlich 100 mcg/100 ml auf maximal 2000mcg/100 ml festgestellt.

Durch die intensive Haemolyse entstehen als weitere Anzeichen dieses kritischen Stadiums der Cu-Vergiftung: Haemoglobinaemie sowie Haemoglobinurie. Der Harn erhält zunehmend eine rotbraune bis schwärzliche Färbung (DRESSLER,1971). Gleichzeitig oxidiert das Cu^{++} das Fe^{++} im Hämoglobin zu Fe^{+++}. Durch diese " Methaemoglobinbildung " wird der Sauerstofftransport (innere Atmung) erheblich beeinträchtigt.

Bei der post mortem-Untersuchung fällt in der Regel die icterische Gelbfärbung des Körperfettes und der sichtbaren Schleimhäute ins Auge. Die Nieren sind dunkelrot bis blauschwarz verfärbt, geschwollen und weisen in manchen Fällen einen deutlich metallischen Glanz auf. Die Harnblase enthält dunkelroten bis kaffeebraunen Harn (ARORA et al.,1977).
Wie Untersuchungen von ISHMAEL et al. (1972) gezeigt haben, kann der zeitliche Ablauf der chronischen Kupfervergiftung erheblichen individuellen Schwankungen unterliegen.

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß unter den dort gegebenen Versuchsbedingungen die haemolytische Krise frühestens 28 und spätestens 60 Tage nach Versuchsbeginn einsetzte. Auch der Zeitpunkt des exitus letalis zeigte mit dem 35. (Minimum) bzw. 88. Tag (Maximum) - trotz bei allen Versuchstieren gleicher Cu-Dosierung - eine verhältnismäßig große Schwankungsbreite.

Tab. 2: Verlauf einer chronischen Kupfervergiftung bei 7 Schafen (Alter bei Versuchsbeginn: 6 Monate. Dosierung: 1 g $CuSO_4$ x 5 H_2O/Tag an 5 Tagen der Woche)
(n. ISHMAEL et al.,1972)

Schaf-Nr.	Auftreten der Haemolyse (Versuchstag)	Exitus (Versuchstag)
80	52 - 55 und 65 - 67	70
81	44 - 48 und 53 - 57	57
82	56 - 58 und 70 - 74	85
83	28 - 30	35
84	60 - 63 und 86 - 88	88
85	57 - 61 und 72 - 74 und 81 - 85	86

2.1.2. Befunde bei der chronischen Kupfervergiftung

In zahlreichen einschlägigen Experimenten wurde der Kupfergehalt der Leber bei Kontroll- und Versuchstieren gemessen. Es ist allerdings bekannt, daß beim Schaf rassenabhängige Unterschiede bezüglich der Kupferspeicherung in der Leber bestehen (WIENER et al.,1974). Auf diese Frage soll jedoch hier nicht näher eingegangen werden.

Die folgende Tabelle zeigt den Anstieg des Kupfergehaltes der Leber von Schafen, die 30 mg $CuSO_4 \times 5H_2O$/kg LM[x)] und Tag erhielten. Aus den Daten läßt sich ferner entnehmen, daß zwischen Zeitdauer der Cu-Verabreichung und Kupfergehalt der Leber keine signifikanten Beziehungen bestehen.

x) LM: Lebendmasse

Tab. 3: Kupfergehalte in der Leber von Schafen nach experimenteller Kupfervergiftung (n. GOPINATH und HOWELL, 1975)

Schaf Nr.	Dauer der Kupferdosierung (Tage)	Cu i.d. Leber (mg/kg TS)
83	Kontrolle	139
87	"	104
90	"	128
81	60	1518
93	57	2004
82	65	3227
91	26	3289

Als Kriterium für die Leberschädigung werden in den meisten Versuchen neben der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase auch die Aktivitäten der Glutamat-Dehydrogenase sowie der Sorbitol-Dehydrogenase im Blutplasma bestimmt. In diesem Zusammenhang weisen GOPINATH und HOWELL (1975) daraufhin, daß ein stetiger Anstieg dieser Enzyme im Plasma von Schafen bereits vor der haemolytischen Krise zu beobachten ist. Mit Einsetzen der Haemolyse erfolgt dann aller-

dings ein weiterer Anstieg bis auf das 20 - 50-fache der physiologischen Normwerte.

HOWELL (1978) ist der Meinung, daß die pathologischen Veränderungen, die sich bei Kupfervergiftungen in der Niere abspielen, bisher zu wenig beachtet wurden.

GOPINATH et al. (1974) stellten während der praehaemolytischen Phase bei Schafen lediglich eine vermehrte Anzahl intraplasmatischer Granula in der Niere fest, die sie für Lysosomen halten. Der Einschluß von Kupfer in Lysosomen soll die Zellen zunächst vor weitergehenden Schädigungen schützen. Eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion war in diesem Stadium noch nicht zu beobachten.
Die Periode akuter Schädigungen - nämlich Degeneration und Nekrose von Epithelzellen im proximalen Tubulus - stimmte zeitlich mit dem Einsetzen der Haemolyse überein. Es konnte von GOPINATH et al.(1974) mit Hilfe histochemischer Verfahren gezeigt werden, daß diese Nierenzellen mit Haemoglobin, Kupfer und Eisen überladen sind (s.Tab.4).
Außerdem wiesen in diesen Versuchen der Anstieg der Harnstoffkonzentration im Blutplasma (bis auf 787 mg/100 ml) und des Proteingehaltes im Harn, sowie der starke Rückgang der endogenen Kreatininclearance (von 50 auf weniger als 10 ml/min) auf

schwere Nierenschädigungen hin.

Tab. 4: Kupfer- und Eisengehalt in der Niere von Schafen mit experimenteller Kupfervergiftung (n. GOPINATH et al., 1974)

Versuchsgruppe	Tierzahl	Kupfergeh. (mg/kg TS)	Eisengeh. (mg/kg TS)
Kontrolle	7	15.6 ± 1.0	101.2 ± 17.0
praehaemolytische Versuchsgruppe	6	46.6 ± 6.7	213.3 ± 46.1
haemolytische Versuchsgruppe	6	547.4 ± 108.9	981.5 ± 165.1

Nach HOWELL (1978) ist die chronische Kupfervergiftung eine " Multisystemerkrankung ", die durchaus nicht auf Leber, Niere und Blut beschränkt bleibt. So konnten THOMPSON und TODD (1974) etwa 1 Tag nach Beginn der haemolytischen Krise einen sehr starken Aktivitätsanstieg der Kreatin-Phospho-Kinase (CPK)) im Blutserum feststellen. Die Autoren führen diesen Umstand im wesentlichen auf nekrotische Vorgänge

an Muskelfasern oder auf eine erhöhte Durchlässigkeit der Muskelzellmembran zurück.
Über charakteristische Veränderungen im Gehirn von an Cu-Intoxikation verendeten Schafen berichten GOPINATH und HOWELL (1975). Als pathologisch-histologische Merkmale werden Schwellungen der Myelinscheiden im verlängerten Mark, im Kleinhirn und in Teilbereichen des Thalamus, sowie eine ausgeprägte Vakuolisierung von Gehirnzellen in der weißen Substanz herausgestellt.

2.1.3. Zur akuten Kupfervergiftung

Zu einem folgenschweren Zwischenfall kam es nach MYLREA und BYRNE (1974) bei 44 Aberdeen-Angus-kälbern (40 - 95 kg LM). Die Tiere erhielten subcutane Injektionen (12 oder 24 ml) mit einer organischen Kupferlösung (6 mg Cu/ml). Im Abstand von 1 - 12 Tagen p.i. verendeten sämtliche Kälber. Eine Reihe von Symptomen ähnelten denen, wie sie zuvor für die chronische Kupfervergiftung beschrieben wurden: erhöhte Kupfergehalte in Leber (290 - 1190 mg Cu/kg TS) und Niere (15 - 97 mg Cu/kg TS) sowie starke Leber- und Nierennekrosen. Zusätzlich wurden aber voluminöse Ergüsse in die Brust- und Bauchhöhle beobachtet.

Zu vergleichbaren Ergebnissen kommen auch ISHMAEL und GOPINATH (1972) nach einmaliger intravenöser Kupferinjektion (20, 50 und 100 mg Cu als $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$) bei Schafen. Todesfälle kamen hier nur in den Gruppen mit 50 und 100 mg Kupfer vor. In diesem Experiment wurden außerdem längeranhaltende Durchfälle sowie Labmagen- und Dünndarmentzündungen festgestellt.

2.2. Kupfer-Interaktionen

2.2.1. Kupfer-Molybdän-Schwefel

Im Jahre 1945 erschien die erste, umfangreiche Mitteilung über den Einfluß von Molybdän auf die Kupferspeicherung in der Leber von Wiederkäuern. Etwa acht Jahre später wurde beschrieben, daß Schwefel als weiterer Faktor gleichsinnig, bzw. verstärkend in den Kupferstoffwechsel einzugreifen vermag (DICK et al.,1975).

Diese Befunde führten in der Folgezeit zu einer Reihe weiterer Erkenntnisse, die auch der praktischen Fütterung zugute kamen.
Kupfermangelerscheinungen sind bei weidenden Wiederkäuern nach HOGAN et al. (1971) in Neuseeland, Australien und England immer dann festgestellt worden,

wenn das Weidegras außergewöhnlich hohe Mo-Gehalte (5 - 20 mg/kg Futter-TS) aufwies. Das Krankheitsbild wird auch als " Molybdänose " bezeichnet und tritt neben den bereits genannten Regionen auch in den US-Staaten Kalifornien, Nevada und Oregon auf. (POPE,1975). Durch Kupferzulagen können die klinischen Erscheinungen, wie anhaltende Durchfälle und rapider Gewichtsverlust beseitigt werden.
Auf der anderen Seite wurden seit der Entdeckung dieser Interaktionen eine Fülle von Versuchen mit dem Ziel durchgeführt, Futterrationen mit überhöhtem Kupfergehalt durch Molybdän-Schwefel-Zusätze gewissermaßen zu entgiften (HOGAN et al.,1968).

In einem derartigen Versuch von SUTTLE(1977) erhielten Schafe eine Futterration mit 45 mg Cu/kg Futter-TS. An die Kontrollgruppe wurde diese Ration ohne jeden Zusatz verfüttert. Sechs der neun Lämmer in dieser Gruppe (Alter bei Versuchsbeginn: 8 Wochen) verendeten an Kupfervergiftung. Die übrigen 4 Versuchsgruppen erhielten einen Zusatz von 2 g S/kg Futter-TS, sowie 2, 4, 8 und 16 mg Mo/kg Futter-TS. Wie die folgende Tabelle zeigt, ging die Kupferspeicherung in der Leber der Versuchstiere unter dem Einfluß des Schwefel-Molybdän-Zusatzes deutlich zurück.

Tab. 5: Einfluß einer Schwefel-Molybdän-Zulage auf den Kupfergehalt in der Leber von Schafen
(n. SUTTLE, 1977)

Futterzusammensetzung			Tier-	Cu in der Leber (mg/kg TS)
Cu(mg/kg TS)	Mo(mg/kg TS)	S(g/kg TS)	zahl	(n.27 Wochen Versuchsdauer)
45	0.7	1.96	9	1725 ± 80 x
45	2.7	3.83	3	449 ± 118
45	4.7	3.83	3	382 ± 34
45	8.7	3.83	3	331 ± 27
45	16.7	3.83	3	204 ± 14

x bzw. am Tage des exitus

Wegen der aus Tabelle 5 abzulesenden Zusammenhänge werden heute in der intensiven Lämmermast zur Vermeidung chronischer Kupfervergiftungen Molybdän- und Schwefelzusätze zum Kraftfutter empfohlen (VAN DER BERG und VAN DER SCHEE,1973).

Trotz intensiver Forschungstätigkeit auf diesem Gebiete steht bis heute nicht eindeutig fest, wo der Angriffspunkt des Molybdän-Schwefel-Antagonismus im Kupferstoffwechsel zu suchen ist. Nach MILLS et al. (1978) ist bisher nicht klar, ob eine eingeschränkte Cu-Absorption aus dem Verdauungstrakt, eine herabgesetzte Verfügbarkeit bereits absorbierten Kupfers oder ein Anstieg der endogenen Kupferausscheidung vorliegt.

In Untersuchungen von CUTTLE und FIELD (1974) konnte die Wirkung einer einmaligen subcutanen Cu-Injektion bei Kupfermangelschafen durch Mo-Zusätze zum Futter nicht aufgehoben werden. Diese Ergebnisse führten zu dem Schluß, daß der Ort der Molybdän-Kupfer-Wechselwirkung wohl in erster Linie im Verdauungstrakt zu suchen sei.

Weitere Versuche haben aber gezeigt, daß die Wirkung von Molybdän bzw. Schwefel durchaus nicht auf den Verdauungskanal beschränkt bleibt.

Nach BINGLEY (1974) liegt das Kupfer im Blutplasma

zu 80 - 90% an Ceruloplasmin, zu 15 - 20% an Albumin und zu 2 - 3% an freie Aminosäuren gebunden vor. Dieses Verteilungsmuster der Kupferbindung im Plasma wird unter dem Einfluß von Molybdänzulagen zum Futter offenbar stark verändert. Wie aus Versuchen von SMITH und WRIGHT (1975) hervorgeht, nimmt mit steigendem Mo-Gehalt der Versuchsdiäten der Anteil des Ceruloplasmin-Kupfers am gesamten Plasma-Kupfer ab und eine nicht in 5% Trichloressigsäure (TCA) lösliche Cu-Fraktion zu.

Den in Tabelle 6 wiedergegebenen Daten liegt folgende Versuchsanordnung zugrunde:

Insgesamt 12 ausgewachsene Hammel wurden in 4 Versuchsgruppen eingeteilt. Die Tiere erhielten 203 Tage lang eine pelletierte Versuchsdiät (0.8 kg/Tag) mit 10 mg Cu, 0.2 mg Mo und 0.73 g S/kg Futter. Zu dieser Basisdiät wurden 0, 8, 16 und 24 mg Mo/kg gegeben.

Tab. 6: Einfluß von Molybdänzulagen auf die Kupferverteilung im Blutplasma von Schafen (n. SMITH und WRIGHT, 1975)

Mo-Zulage (mg/kg Futter)	0	8	16	24
Gesamt-Kupfer (mcg/100 ml)	99	87	129	133
Ceruloplasmin-Kupfer (mcg/100 ml)	75	61	65	67
Ceruloplasmin-Kupfer in % des gesamten Plasma-Cu	75	70	50	50
In 5% TCA lösliches Cu (mcg/100 ml)	100	87	83	79
TCA-lösliches Cu in % des gesamten Plasma-Cu	101	100	64	59

Unter dem Einfluß steigender Mo-Gehalte im Futter scheint auch der Gesamt-Cu-Gehalt im Blutplasma anzusteigen (s.Tab.6). Wahrscheinlich erschwert die neugebildete Cu-Fraktion im Plasma die Weitergabe des Cu an andere Organe.

In diesem Zusammenhang konnten MARCILESE et al. bereits 1969 nachweisen, daß Molybdän- und Sulfatzusätze zum Futter bei Schafen zu einem verlangsamten Abtransport von ^{64}Cu aus dem Blutplasma, einer verringerten ^{64}Cu-Aufnahme durch die Leber und einer Behinderung des ^{64}Cu-Einbaues in Ceruloplasmin führen.

In den Versuchen von MARCILESE et.al. (1969) enthielt die Basalration (1) 12 - 14 mg Cu/kg und 0.03 % anorg. Sulfat/kg. Zwei weiteren Rationen wurden entweder 0.4 % Sulfat als Natriumsulfat (2) oder 0.4 % Sulfat + 50 mg Mo/kg Futter als Natriummolybdat (3) hinzugefügt.

Tab. 7: Auswirkung von Mo- und SO_4-Zusätzen zum Futter auf den Cu-Stoffwechsel von Schafen nach 120 Tagen Versuchsdauer
(n. MARCILESE et al., 1969)

Ration	1 Basal	2 + SO_4	3 + SO_4 +Mo
Tierzahl	5	5	18
Aufnahme von ^{64}Cu durch die Leber, 24 h nach i.v.-Infusion (in % der markierten Cu-Dosis)	80 ± 8	82 ± 5	33 ± 8
Kupfergehalt der Leber (mg/kg TS)	1151 ± 359	1157 ± 254	301 ± 111
Cu im Plasma (mcg/100 ml)	112 ± 10	109 ± 10	102 ± 10
Ceruloplasmin-Cu (mcg/100 ml)	87 ± 7	95 ± 8	45 ± 6

Mit der gleichen Versuchanordnung (Tab. 7) konnten MARCILESE et al. (1970) außerdem zeigen, daß durch Mo +S-Zulagen eine Steigerung der renalen Cu-Ausscheidung erfolgt. Dies würde gegebenenfalls neben der verminderten Cu-Leberspeicherung und der herabgesetzten Ceruloplasmin-Synthese eine weitere Wirkung der beiden Cu-Antagonisten auf den Cu-Stoffwechsel bedeuten.

Weitere Beiträge zur Aufklärung der Mo-S-Cu-Interaktionen haben neuere Untersuchungen von MILLS et al. (1978) erbracht.

Nach SUTTLE (1974a) potenziert nämlich Sulfat nur beim Wiederkäuer den Cu-Mo-Antagonismus. Bei Monogastriern kann letzterer durch Sulfat eher abgeschwächt werden. Im Pansen wird S - unabhängig davon, ob es organisch oder anorganisch gebunden ist (SUTTLE, 1974 b; SUTTLE, 1975) - in Sulfid umgewandelt und anschließend intensiv durch die Pansenwand absorbiert.

MILLS et al. (1978) konnten kürzlich nachweisen, daß Pansen-Mikroorganismen, zu deren Kulturmedium Mo und SO_4 gegeben wurde, aus Molybdat und Sulfid sogenannte Thiomolybdate ($MoO_xS^{--}_{4-x}$) bilden können.

Eine derartige Verbindung (Tetrathiomolybdat) wurde von den Autoren synthetisiert und in Ratten-Versuchs-

diäten eingemischt. Die folgende Tabelle zeigt, daß mit dieser Verbindung Wirkungen auf den Kupferstoffwechsel der Ratte erzielt werden, wie sie beim Schaf nach S- und/oder Mo-Zusätzen zum Futter auftraten (s.Tab.5,6,7).

Tab. 8: Auswirkungen von Molybdänzulagen (als Tetrathiomolybdat=TM) auf den Cu-Stoffwechsel von Ratten (Cu-Gehalt: 3 mg/kg Futter. Versuchsdauer: 5 Wochen. 6 Tiere/Versuchsgruppe)
(n. MILSS et al.,1978)

Mo als TM (mg/kg Futter)	0.0	1.0	2.0	4.0	6.0
Plasma-Cu (mcg/100 ml)	113 ± 6	134 ± 5	137 ± 4	186 ± 10	170 ± 18
In 5% TCA lösliches Cu (mcg/100 ml)	112 ± 3	83 ± 4	18 ± 4	6 ± 3	5 ± 3
Ceruloplasmin (U/l)	47 ± 5	46 ± 4	15 ± 5	0.0	0.0
Leber-Cu (mg/kg TS)	12.1 ± 0.8.	11.5 ± 1.0	8.5 ± 1.3	5.7 ± 0.9	4.0 ± 0.6

In der folgenden Tabelle (Tab.9) sind weitere Daten zusammengestellt, die den Einfluß von Thiomolybdat (TM) auf die Dynamik des Cu-Stoffwechsels bei der Ratte noch etwas näher beleuchten. In beiden Gruppen (6 Tiere/Gruppe) betrug der Cu-Gehalt 3 mg/kg Futter. Die Versuchsgruppe erhielt zusätzlich 12 mg Mo als TM/kg Futter.
Nach Beendigung des Versuchs (Dauer: 1 Woche) erhielten die Tiere eine orale Dosis ^{64}Cu.

Tab. 9: Einfluß von Tetrathiomolybdat auf den Cu-Stoffwechsel von Ratten (n. MILLS et al.,1978)

	Kontrollgruppe	12 mg Mo als TM/kg Futter
Wiederauffindungsrate (% der oralen ^{64} Cu-Dosis, ohne Verdauungstrakt)	34 ± 1.6	4 ± 1
% des Körper-^{64}Cu		
Im Blut	6 ± 1	68 ± 0.5
in der Leber	33 ± 2	10 ± 1

Im Körper der Versuchstiere wurden bei der Kontrollgruppe 34% der oralen ^{64}Cu-Dosis wiedergefunden

(ohne Verdauungstrakt). Bei der mit Mo zusätzlich belasteten Gruppe waren es nur 4%. Die Autoren schliessen aus den Ergebnissen auf eine partielle Hemmung der ^{64}Cu-Absorption aus dem Verdauungstrakt durch Thiomolybdate. Sind die Thiomolybdate selbst jedoch einmal absorbiert, so führen sie zu einer Reihe " systemischer " Effekte im Cu-Stoffwechsel: Die Verweildauer von Cu im Blut ist erhöht, im Blutplasma entsteht eine Cu-Fraktion, aus der sich das Kupfer mit 5%iger Trichloressigsäure nicht mehr freisetzen läßt, die Cu-Einlagerung in die Leber wird gehemmt und die Ceruloplasmin-Synthese herabgesetzt.

2.2.2. Kupfer-Eisen

Wie SOURKES (1970) in Versuchen mit Ratten zeigen konnte, bestehen enge Wechselwirkungen zwischen den Cu- und Fe-Konzentrationen in der Leber. Im Eisenmangel steigt der Kupfergehalt der Leber an, im Kupfermangel gilt das Gleiche für den Eisengehalt (s.Tab.10).

Tab. 10: Wechselbeziehungen zwischen Kupfer- und Eisengehalt in der Rattenleber (n. SOURKES, 1970)

Versuchsgruppe	Tierzahl	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)
Kontrolle	24	57 ± 6.0	4.6 ± 0.6
Fe-Mangel	29	27 ± 2.0	14.7 ± 3.5
Cu-Mangel	20	162 ± 20.0	3.6 ± 0.4
Fe + Cu-Mangel	26	30 ± 7.0	3.1 ± 0.5

Der Einfluß erhöhter Eisenaufnahme auf den Cu-Haushalt von Rindern geht aus Untersuchungen von CAMPELL et al.(1974) hervor. Insgesamt 8 einjährige Rinder wurden auf einer Weide gehalten, deren Bewuchs im Mittel (23 Analysen) folgende Gehaltswerte (i.d.TS) aufwies: Cu : 10.7 mg/kg; Mo : 1.5 mg/kg; Fe : 581 mg/kg; SO_4-Schwefel : 0.13%.
Die Versuchtiere erhielten zusätzlich 30 mg Fe/kg LM und Tag oral als Eisenhydroxyd. Die Versuchsdauer betrug insgesamt 7 Monate. Blutentnahmen und Leberbiopsien erfolgten im Abstand von etwa 4 Wochen (s.Tab.11).

Tab. 11: Einfluß hoher Fe-Aufnahme auf den Cu-Stoffwechsel von Rindern (n.CAMPELL et al.,1974)

Versuchswoche	Cu in der Leber (Mittelwerte) (mg/kg TS)	Cu im Blutplasma (mcg/100 ml)
Versuchsbeginn	179	90
4	126	88
8	73	81
12	46	75
16	29	59
20	14	45
24	12	37
28	7	33

In der Tendenz vergleichbare Auswirkungen auf den Kupfergehalt in der Leber von Schafen zeigten sich in Versuchen von GRÜN et al. (1978). Hier wurden 250, 1000 und 1750 mg Fe/kg Futter-TS verfüttert. Nach Versuchsende betrugen die zugehörigen Cu-Gehalte in den Lebern (Mittelwerte) : 160, 124 und 73 mg/kg TS.

Zahlreiche von FORTH (1974) referierte Experimente haben gezeigt, daß eine Reihe von Spurenelementen wie beispielsweise Mn, Co, Ni, Cr und Zn mit dem Eisen um ein Transportsystem in der Dünndarmmucosa konkurrieren. Kupfer wird hiervon ausdrücklich ausgenommen. Es ist daher unwahrscheinlich, daß die angedeuteten Kupfer-Eisen-Interaktionen auf Absorptionshemmungen im Verdauungskanal beruhen.

Die Wechselwirkungen sind wahrscheinlich auf einer anderen Ebene zu suchen. Das molekulare Bindeglied zwischen Fe- und Cu-Stoffwechsel wird nach FRIEDEN (1978) durch das Ceruloplasmin repräsentiert. Dieses Kupferprotein oxidiert das aus den Fe-Speichern kommende Eisen (Fe^{++} zu Fe^{+++}). Es kontrolliert damit die Geschwindigkeit, mit welcher das aus den Speicherorganen abgegebene Fe^{++} in zirkulierendes Fe^{+++}-Transferrin umgewandelt wird.

Auf der anderen Seite konnte von FRIEDEN (1978) nach-

gewiesen werden, daß das in Ceruloplasmin gebundene Kupfer vor allem für die Biosynthese der Cytochrom-C-Oxidase - und vielleicht noch weiterer Cu-Proteine - in Herz, Leber, Milz, Lunge und Pankreas verwendet wird.

2.2.3. Kupfer-Calcium

Nach WIESNER(1970) ist seit langem bekannt, daß eine Zulage von Calciumcarbonat zur Futterration die Kupferverwertung bei Wiederkäuern verschlechtert. Diese Wirkung eines Calciumcarbonatzusatzes soll mit pH-Veränderungen an den Orten der intestinalen Cu-Absorption in Zusammenhang stehen.
Tatsächlich konnten SUTTLE und FIELD (1970) bei Schafen einen Anstieg der täglichen faecalen Cu-Ausscheidung von 2.8. auf 3.5. mg/Tag nachweisen, wenn der Ca-Gehalt der Futterration von 1 auf 2% angehoben wurde.
WIESNER (1970) weist außerdem daraufhin, daß Calciumcarbonatzulagen beim Schwein keinen Einfluß auf den Kupferhaushalt haben. In dieser Richtung deuten auch HODGE und PALMER (1973) ihre bei Lämmern erzielten Ergebnisse. Die Versuchstiere erhielten ausschließlich Milchaustauschtränke und blieben daher während des gesamten Versuches funktionell

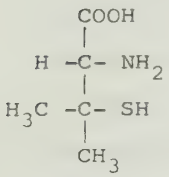
monogastrisch. Die Calciumaufnahme wurde in 4 Stufen gesteigert: 50, 250, 450 und 630 mg Ca/kg LM und Tag. Auch in den Gruppen mit der höchsten Ca-Aufnahme konnte kein Einfluß auf den Cu-Gehalt in der Leber der Lämmer nachgewiesen werden. Die Autoren äußern die Meinung, daß der fehlende Ca-Einfluß in ihrem Experiment auf die Unterschiede zwischen Wiederkäuer- und Nichtwiederkäuerverdauung zurückzuführen seien.

Diese Vermutungen scheinen durch Untersuchungen von ANKE et al. (1976) bekräftigt zu werden. Hier erhielten wiederkauende Lämmer ein Alleinfutter mit 22 - 25 mg Cu/kg TS und jeweils 10, 26 und 38 g Ca/kg TS. Bis zum Versuchsende (Lebensalter der Lämmer: ca. 150 Tage) traten - trotz des relativ hohen Kupfergehaltes im Versuchsfutter - keinerlei Kupfervergiftungserscheinungen auf. Unter dem Einfluß der höchsten Ca-Zulage (38 g/kg Futter-TS) wurde der Kupfergehalt der Leber signifikant gesenkt.
Auf dem Sektor der Cu-Ca-Interaktionen bleiben noch eine Reihe offener Fragen bestehen. So bewirkten Rationen mit 0.88% Ca und 0.47% P, sowie mit 2.3% Ca und 0.47% P (bei 6 mg Cu/kg Futter) einen etwa identischen Abfall der Cu-Konzentration in der Leber von Milchkühen, nämlich von 200 mg Cu/kg Leber-TS zu Versuchsbeginn auf durchschnittlich 68 mg Cu/kg

Leber-TS nach 13 Monaten.
Wurde der P-Gehalt in der Versuchsration auf 1.2% angehoben (Ca: 2.3%), so verlangsamte sich die Kupferentspeicherung aus der Leber signifikant (von 200 auf 134 mg Cu/kg Leber-TS). HUBER und PRICE (1971) sehen eine Erklärungsmöglichkeit für diese Effekte in folgendem:
durch die höhere P-Zufuhr könnte die Acidität im Dünndarm angestiegen sein. Dies würde dann zu einer gesteigerten Cu-Absorption beigetragen haben.

2.3. D-Penicillamin

Im Jahre 1956 wurde eine neue chelatbildende Substanz in die Therapie der Kupfervergiftung eingeführt: D-Penicillamin (SCHÜTTMANN, 1966).
Diese Verbindung kommt in der Natur nur als Baustein der Penicilline vor.



D-Penicillamin

Bruttoformel: $C_5H_{11}NO_2S$

Molgewicht: 149.2

Systematischer Name: D-2-Amino-3-mercapto-3-methyl-buttersäure

Übliches Synonym: D-ß-ß-Dimethyl-cystein

Nach DÜRR (1977) besteht ein hervorstechendes Merkmal des D-Penicillamin in seiner Zugehörigkeit zu der in der Natur ungewöhnlichen D-Aminosäure-Reihe. Es kann aus diesem Grunde nicht mit Enzymen reagieren, deren Substrate L-Aminosäuren sind. Es kann auch nicht als " falsche Aminosäure " in körpereigene Proteine eingebaut werden.
D-Penicillamin enthält die Atome N,O und S in benachbarter Stellung. Diese Elektronendonatoren können mit Metallen aus den Nebengruppen des periodischen Systems (Elektronenakzeptoren) sogenannte " Chelate " bilden. Die beiden Methylgruppen erhöhen dabei die Komplexstabilität noch erheblich (KAMMACHER, 1977).

Bei der Behandlung des Morbus Wilson hat sich Penicillamin als Cu-Komplexbildner bisher hervorragend bewährt. Es ruft eine starke Steigerung der Cu-Ausscheidung im Harn und damit eine Cu-Ausschwemmung aus den hauptsächlich betroffenen Organen hervor.

Der Morbus Wilson ist nämlich gekennzeichnet durch abnorme Cu-Ablagerungen vor allem im Gehirn aber auch in der Leber. Diese pathologisch hohen Cu- Gehalte führen wiederum zu Organläsionen und Funktionsstörungen (LANGE,1977).

Über den Einsatz von D-Penicillamin bei akuten Kupfervergiftungen von Kindern berichten HOLTZMAN et al. (1966). Durch eine Dosis von 1 g D-Penicillamin/Tag konnte die Cu-Konzentration im Blutplasma innerhalb von 11 Tagen von 400 auf 150 mcg/100 ml gesenkt werden. Dabei wurden zu Behandlungsbeginn bis zu 2 mg Cu/ 6 Stunden im Harn ausgeschieden.
Neuerdings ist es gelungen, die Struktur des Penicillamin-Cu-Komplexes aufzuklären, der nach D-Penicillamin-Therapie im Harn ausgeschieden wird. Dieser Komplex läßt sich mit der Formel

$$(Cu^{++}_{6} Cu^{+}_{8} Pen_{12} Cl)^{5-}$$

umschreiben und besteht aus 6 Atomen zweiwertigem Kupfer, 8 Atomen einwertigem Kupfer, 12 Penicillamin-Resten sowie einem Cl^--Anion. Die COO^--Gruppen der 12 Penicillamin-Reste ragen über die Oberfläche des Komplexes hinaus in die umgebende Lösung und verleihen diesem eine besonders hohe Löslichkeit (BIRKER et al., 1978).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Analytik

In allen Versuchen wurden Kupferbestimmungen in Serum und Leber (in Versuch III noch in Gehirn und Niere) durchgeführt, GOT und GPT im Serum sowie Hb im Blut ermittelt. In Versuch I wurde zusätzlich der Eisengehalt in Serum und Leber untersucht, sowie der Hämoglobin- und Bilirubingehalt im Blut bzw. Serum.

3.1.1. Eisenanalyse im Serum

Eisenanalysen wurden mit Boehringer Test Nr. 15947 durchgeführt.

Der Testsatz enthält folgende Lösungen:

Lösung 1: 100 µg Eisen/100 ml

Lösung 2: 1 N HCL

Lösung 3: 1.23 M Trichloressigsäure

Lösung 4: 0.56 mM Bathophenanthrolin-disulfonat
4.0 M Acetatpuffer, pH = 4.6
0.1 M $Na_2S_2O_5$
16.0 mM p-Methylaminophenol

Bestimmungssatz:

Wellenlänge: Filter Hg 546 nm, gemessen im Eppendorf Photometer

Glasküvette: 2 cm Schichtdicke

Temperatur: 20 - 25 Grad Celsius

Messung gegen Leerwert. Für jede Messung wurden mindestens 2 Standards und zwei gleiche Proben verwendet.

Prinzip:

Nach Freisetzung des gebundenen Eisens wird Serum mit Trichloressigsäure enteiweißt. Zweiwertiges Eisen bildet unter den Testbedingungen mit Bathophenanthrolin einen gefärbten Komplex, dessen Farbintensität der Eisenkonzentration proportional ist und zwischen 500 und 550 nm gemessen wird.

Es wurden in 10-ml-Zentrifugengläser pipettiert:

	Leerwert	Standard	Probe
Aqua bidest	1.0ml	-	-
Lösung 1	-	1.0ml	-
Lösung 2	0.5ml	0.5ml	1.0ml
Serum	-	-	2.0ml

Die Ansätze wurden gemischt und 20 min bei Raumtemperatur stehen gelassen.

Lösung 3	0.5ml	0.5ml	1.0ml

Die Ansätze wurden wieder gut gemischt, der Niederschlag bei der Probe mit einem Glasstab gut verteilt, 10 min bei 6000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein trockenes Reagenzglas abgegossen.

Überstand	(obige Lösung weiter verwendet)		2.0ml
Lösung 4	1.0ml	1.0ml	1.0ml

Die Ansätze wurden wieder gemischt, danach die Extinktionen der Probe und Extinktionen des Standards

gegen Leerwert gemessen.

Berechnung:

$$\frac{E_{Probe}}{E_{Standard}} \times 100 = \mu g \text{ Eisen/100 ml Serum } ^{x)}$$

Um die Genauigkeit der Fe-Analyse im Serum zu überprüfen, wurden folgende Proben hergestellt:

Probe 1: Eisen(II)-sulfat-Lösung, 187,4 µg Fe/100ml

Probe 2: unverdünntes Serum eines ca. 3 Wochen alten Kalbes

Probe 3: Gemisch von Probe 1 und Probe 2 im Verhältnis 1 : 2

Die Analyse ergab folgende Werte:

	Soll	Ist	Wiederauffindung
Probe 1	187,4ppm	186,7ppm	99,6%
Probe 2	-	39,6ppm	-
Probe 3	112,9ppm	110,8ppm	98,2%

Weiter wurde zur Überprüfung der Genauigkeit des Tests eine Eichkurve (Abb. 1) erstellt, deren Werte

x) µg Eisen/ 100 ml x 0,1791 = µmol Eisen/l

bei der Analyse einer Verdünnungsreihe einer Eisen (II)-sulfat-Lösung erhalten wurden.

Um eine Lösung von 10 000 µg Fe/100 ml zu erhalten, wurden 497,96 mg $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ in einen 1000ml-Meßkolben gegeben und mit 5 ml HCl conc. (dadurch wurde ein pH-Wert von 1.34 erreicht, der dem pH-Wert der Standardlösung entspricht) sowie mit Aqua bidest. bis zum Eichstrich aufgefüllt.

Diese Lösung wurde mit aqua bidest. 1 zu 10 verdünnt. So wurde eine Ausgangslösung von 1000 µg Fe/100 ml erhalten.

Von dieser Ausgangslösung wurden durch weiteres Verdünnen mit aqua bidest. folgende Lösungen hergestellt:

Lösung 1: Verdünnung 1 ad 20 : 50 µg Fe/ 100 ml

Lösung 2: Verdünnung 1 ad 10 : 100 µg Fe/ 100 ml

Lösung 3: Verdünnung 1 ad 5 : 200 µg Fe/ 100 ml

Lösung 4: Verdünnung 1 ad 4 : 250 µg Fe/ 100 ml

Die Lösungen wurden mit Boehringer Test auf Eisen analysiert, wobei die Lösungen bei der Analyse ebenso wie der Standard behandelt wurden.

Lösung	Soll µg Fe/100ml	Ist µg Fe/100ml	Wiederauffindungsrate (%)
1	50	48.7	97.4
2	100	98.7	98.7
3	200	198.1	99.0
4	250	244.5	97.8

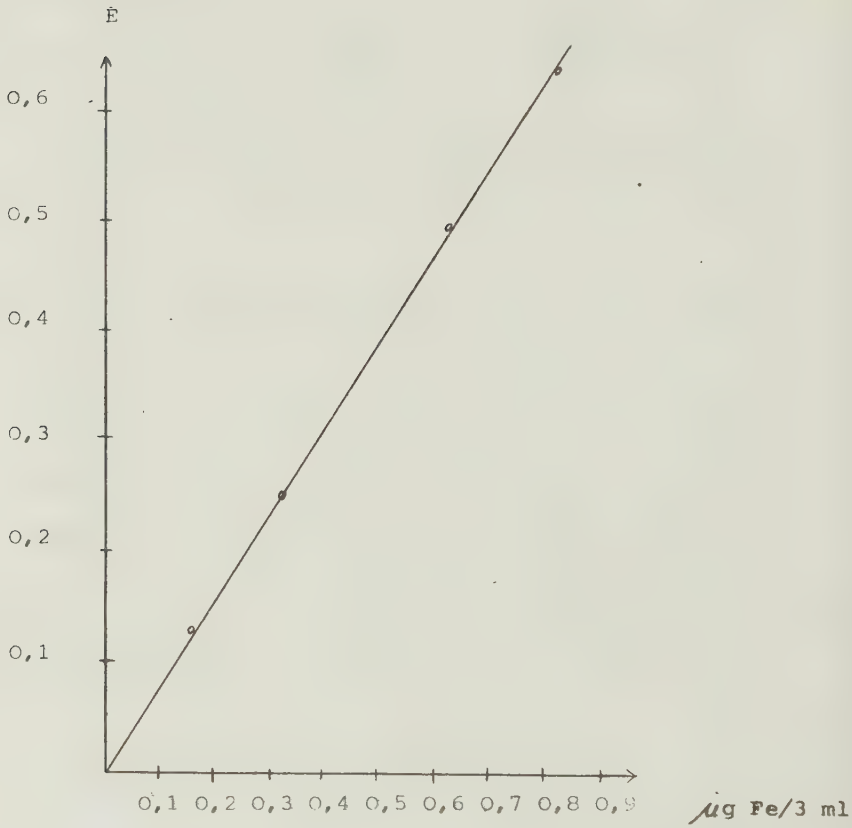
Abb. 1: Eichkurve zur Eisenbestimmung nach Boehringer

Test Nr. 15947

Eppendorf-Photometer

Filter Hg 546

Glasküvette d = 2 cm



3.1.2. Kupferanalyse im Serum

Kupferanalysen wurden mit Boehringer Test Nr, 15946 durchgeführt.

Der Test enthält folgende Lösungen:

Lösung 1: 200 µg Cu/100 ml

Lösung 2: 1N HCL

Lösung 3: 1.23 M Trichloressigsäure

Lösung 4: 0.53 mM Bathocuproin-disulfonat;
3.3 M Acetat;
0.1 M $Na_2S_2O_5$;
16 mM p-Methylaminophenol.

Bestimmungssatz:

Wellenlänge: Filter Hg 492 nm, gemessen im Eppendorf-Photometer

Glasküvette: 1 cm Schichtdicke

Temperatur: 20 - 25 Grad Celsius

Messung gegen Leerwert. Für jede Messung wurden mindestens 2 Standards und zwei gleiche Proben verwendet.

Prinzip:

Nach Freisetzung des gebundenen Kupfers wird Serum mit Trichloressigsäure enteiweißt. Kupfer bildet unter den Testbedingungen mit Bathocuproin einen gefärbten Komplex, dessen Farbintensität der Kupfer-

konzentration proportional ist und zwischen 430 und 492 nm gemessen wird.

Es würden in 10-ml-Zentrifugengläser pipettiert:

	Leerwert	Standard	Probe
Aqua bidest	1.0ml	-	-
Lösung 1	-	1.0ml	-
Lösung 2	0.5ml	0.5ml	1.0ml
Serum	-	-	2.0ml

Die Ansätze wurden gemischt und bei Raumtemperatur 20 min stehen gelassen.

Lösung 3	0.5ml	0.5ml	1,0ml

Die Ansätze wurden wieder gut gemischt, der Niederschlag bei der Probe mit einem Glasstab gut verteilt, 10 min bei 6000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein trockenes Reagenzglas abgegossen.

Überstand	(obige Lösung weiter verwendet)		2.0ml
Lösung 4	1.0ml	1.0ml	1,0ml

Die Ansätze wurden wieder gemischt, danach die Extinktion der Probe und Extinktion des Standards gegen Leerwert gemessen.

Berechnung:

$$\frac{E_{Probe}}{E_{Standard}} \times 200 = \mu g \text{ Kupfer/100 ml Serum}^{x)}$$

Um die Genauigkeit der Kupferanalyse im Serum zu überprüfen, wurden folgende Lösungen hergestellt:

Probe 1: Cu(II)-sulfat-Lösung 198.99 µg Cu/100 ml

Probe 2: unverdünntes Serum eines ca. 3 Wochen alten Kalbes

Probe 3: Gemisch von Probe 1 und Probe 2 im Verhältnis 1: 2

Die Analyse ergab folgende Werte:

	Soll	Ist	Wiederauffindung
Probe 1	198,99 ppm	192,26	96,6%
Probe 2	-	50,74	-
Probe 3	121,45 ppm	123,88	102,0%

Weiters wurde zur Überprüfung der Genauigkeit des Tests

x) µg Kupfer/100 ml x 0,1574 = µmol Kupfer/l

eine Eichkurve (Abb. 2) erstellt, deren Werte bei der Analyse einer Verdünnungsreihe einer Kupfer (II)-sulfat-Lösung erhalten wurden.

Um eine Lösung von 10 000 µg Cu/100 ml zu erhalten, wurden 392,95 mg $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ in einen 1000ml-Meßkolben gegeben und mit 5 ml HCl conc. (damit wurde ein pH-Wert von 1.34 erreicht, der dem pH-Wert des Standards entspricht) sowie mit aqua bidest. bis zum Eichstrich aufgefüllt.

Diese Lösung wurde mit aqua bidest. 1 zu 10 verdünnt. So wurde eine Ausgangslösung von 1000 µg Cu/100 ml erhalten.

Von dieser Ausgangslösung wurden durch weiteres Verdünnen mit aqua bidest. folgende Lösungen hergestellt:

Lösung 1: Verdünnung 1 ad 20.00 : 50 µg Cu/100 ml

Lösung 2: Verdünnung 1 ad 12.50 : 80 µg Cu/100 ml

Lösung 3: Verdünnung 1 ad 10.00 :100 µg Cu/100 ml

Lösung 4: Verdünnung 1 ad 8.00 :125 µg Cu/100 ml

Lösung 5: Verdünnung 1 ad 5.00 :200 µg Cu/100 ml

Lösung 6: Verdünnung 1 ad 4.00 :250 µg Cu/100 ml

Lösung 7: Verdünnung 1 ad 2.00 :500 µg Cu/100 ml

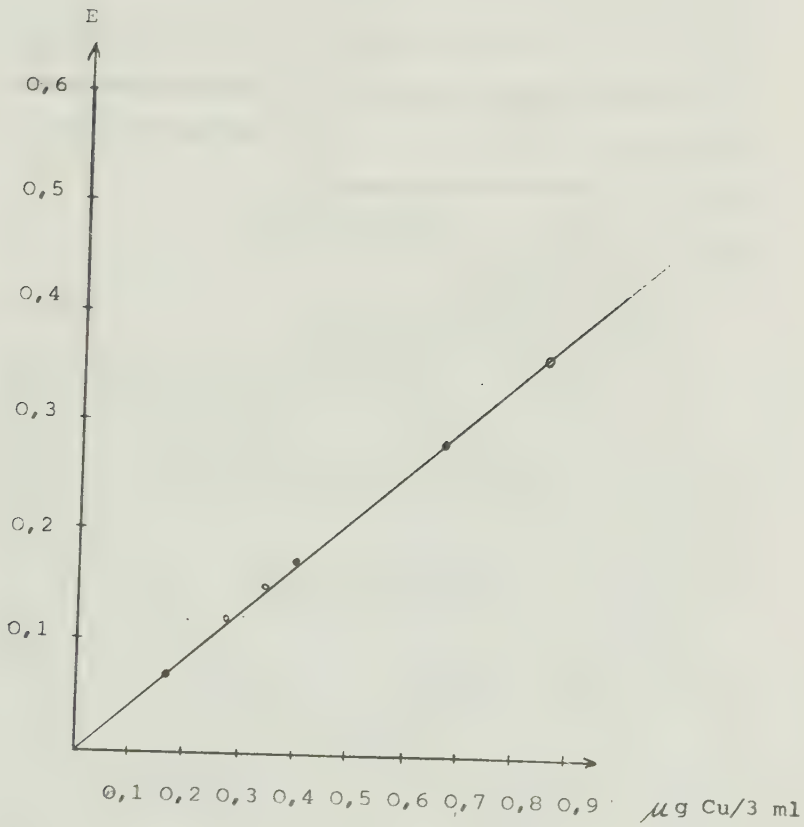
Abb. 2: Eichkurve zur Kupferbestimmung nach Boehringer

Test Nr. 15946

Eppendorf Photometer

Filter Hg 492

Glasküvette d = 1 cm



3.1.3. Calciumanalyse im Serum

Die Analyse wurde nach der photometrischen Haury-Testmethode durchgeführt.

Prinzip:
Das Calcium wird als Chloranilat ausgefällt. Der Ca-Niederschlag wird mit Isopropylalkohol gewaschen und mit Eisen (III)-chlorid zur Lösung gebracht. Die entstandene Farbe des Eisenchloranilkomplexes wird photometrisch gemessen und stellt ein Maß für die im Serum vorhandene Ca-Menge dar.

Der Test enthält folgende Lösungen:

1. Chloranilatlösung
2. Calciumstandard 10 mg/100ml
3. Eisen(III)-chlorid-Lösung (wird als Konzentrat geliefert; vor Gebrauch ist 1 Teil Konzentrat mit 9 Teilen aqua bidest. zu verdünnen. Die Verdünnung ist unbegrenzt haltbar).
4. Isopropylalkohol 50%-ig.

Bestimmungssatz:

Serum wird unverdünnt verwendet. Die Reagenzien werden nach folgendem Schema in Zentrifugengläsern zusammengegeben:

	Leerwert	Standard	Probe
Serum	-	-	0.5ml
Standardlösung	-	0.5ml	-
Chloranilatlösung	-	0.5ml	0.5ml
30 min stehen lassen, dann 10 min zentrifugieren, (ca. 5000 U/min). Der klare Überstand wird vollständig abgegossen (das Glas zum Schluß umgekehrt auf Filterpapier gestellt). Es wird mit dem Rückstand von Standard und Probe weitergearbeitet.			
Isopropylalkohol	-	0.5ml	0.5ml
Nun wird gut durchgewirbelt und dann 10 min zentrifugiert (ca. 5000 U/min). Der klare Überstand wird vollständig abgegossen (das Glas zum Schluß umgekehrt auf ein Filterpapier gestellt).			
Eisen(III)-chloridlösung	5.0ml	5.0ml	5.0ml

Nun wird geschüttelt, bis der Niederschlag vollständig gelöst wird, dann bei Filter Hg 546 nm gegen Leerwert gemessen. Die Farbe ist etwa eine Stunde stabil. Zuweilen bleiben je nach Beschaffenheit des Serums einige flockige Bestandteile des Serums in der Schwebe, die durch Filtrieren beseitigt werden können.

Berechnung:

$$\frac{E_{Probe}}{E_{Standard}} \times 10 = \text{mg Ca/100 ml}^{x)}$$

Um die Wiederholbarkeit des Tests zu überprüfen, wurde bei 10 Analysen desselben Serums die Standardabweichung ermittelt:

Die einzelnen Proben ergaben folgende Ca-Werte in mg/100 ml:
9.51; 9.42; 9.39; 9.39; 9.48; 9.45; 9.39;
9.48; 9.45; 9.51.
Der Durchschnittswert betrug 9.45.
Die Standardabweichung errechnet sich zu 0.048 mg/100ml, was einem Variationskoeffizienten von 0.5% entspricht.

x) mg Calcium/100 ml x 0,2495 = mmol Calcium/l

3.1.4. Analyse der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (E.C. 2.6.1.1.) im Serum

Die Analysen wurden mit Boehringer Monotests Nr. 15871 TMAB durchgeführt.

Prinzip:

Das Enzym Glutamat-Oxalacetat-Transaminase katalysiert die Gleichgewichtsreaktion

L-Glutamat + Oxalacetat $\rightleftharpoons$ L-Aspartat + α-Ketoglutarat

Man bestimmt die Aktivität der GOT aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen Oxalacetat-Zunahme. Dieses wird in der gekoppelten, durch Malat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt:

Oxalacetat + NADH + H^+ $\rightleftharpoons$ L-Malat + NAD^+

NADH ist die Meßgröße und auf Grund seiner Absorption bei 366, 340 oder 334 nm leicht zu bestimmen.

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: 366 nm

Glasküvette: d = 1 cm

Temperatur: 25°C

Messung gegen Luft

In eine Monotestflasche (Phosphatpuffer, L-Aspartat,

NADH, MDH, LDH, α -Ketoglutarat) wurden 3.0ml aqua bidest. pipettiert. Der Inhalt der Monotest-flasche ist nach 2 min Raumtemperatur gelöst und ca. 3 Stunden haltbar. Nach Lösung des Inhaltes wurden 0.5 ml Serum zugegeben, gemischt und die Lösung in eine Küvette gegossen. Nach ca. 1 min wurde die erste Extinktion abgelesen und gleichzeitig die Stoppuhr gestartet. Nach genau weiteren 1, 2 und 3 min wurden die Ablesungen wiederholt.
Aus den Extinktionsdifferenzen pro Minute wurde der Mittelwert gebildet und dieser in die Berechnung eingesetzt.

Berechnung:

Eine Einheit (U) ist die Enzymmenge, die bei 25°C 1 μMol Substrat in 1 min umsetzt. Sie wurde auf 1 l Körperflüssigkeit bezogen.

1 mU = o,ool U

Der Extinktionkoeffizient von NADH beträgt bei 336 nm 3,3 cm^2/μMol.

Es ist daher bei einem Einsatz von 0.5 ml Serum und einem Testvolumen von 3,5 ml:

$$\Delta E_{366nm}/min \times 2121 = mU/ml$$

Um die Genauigkeit des Tests zu überprüfen, wurden die Aktivitäten derselben Serumprobe dreimal in

halbstündigem Abstand gemessen. Es ergaben sich folgende Extinktionen:

Anfangswert:	1 min:	0.392	Δ E = 0.010 = 21 mU
	2 min:	0.380	
	3 min:	0.371	
	4 min:	0.361	
nach 30 min:	1 min:	0.342	Δ E = 0.010 = 21 mU
	2 min:	0.332	
	3 min:	0.322	
	4 min:	0.311	
nach 60 min:	1 min:	0.291	ΔE = 0.010 = 21 mU
	2 min:	0.282	
	3 min:	0.272	
	4 min:	0.262	

Es waren keine Abweichungen feststellbar.

3.1.5. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (E.C. 2.6.1.2.) im Serum

Die Analysen wurden mit Boehringer Test Nr. 15878 TMAC (Monotest) durchgeführt.

Prinzip:

Das Enzym Glutamat-Pyruvat-Transaminase katalysiert die Gleichgewichtsreaktion

L-Glutamat + Pyruvat $\rightleftharpoons$ L-Alanin + α-Ketoglutarat

Man bestimmt die Aktivität der GPT aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen Pyruvatzunahmen. Dies wird in der gekoppelten, durch Lactat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt:

Pyruvat + NADH + H^+ $\rightleftharpoons$ L-Lactat + NAD^+

NADH ist die Meßgröße und auf Grund seiner Absorption bei 366, 340 und 334 nm leicht zu bestimmen.

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: 366 nm

Glasküvette: d = 1 cm

Termperatur: 25°C

Messung gegen Luft

In eine Monotestflasche (Phosphatpuffer, α-Ketoglutarat, DL-Alanin, Dinitrophenylhadrazin, Natronlauge) werden 3.0 ml aqua bidest. pipettiert. Der Inhalt der Testflasche ist nach 2 min bei Raum - temperatur gelöst und ca. 3 Stunden haltbar. Nun werden 0,5 ml Serum zugegeben und gemischt. Die Lösung wird anschließend in eine Glasküvette gegossen. Nach ca. 1 min wird die Extinktion im Photometer abgelesen und gleichzeitig die Stoppuhr gestartet. Nach genau weiteren 1, 2 und 3 min wird die Ablesung wieder-

holt .

Berechnung der GPT-Aktivität:

Eine Einheit (U) ist die Enzymmenge, die bei 25°C 1 µMol Substrat in 1 min umsetzt. Sie wird auf 1 l Körperflüssigkeit bezogen.

1 mU = 0.001 U

Der Extinktionkoeffizient beträgt bei 366 nm 3,3 $cm^2/\mu Mol$.

Es ist daher bei einem Einsatz von 0.5ml Serum und einem Testvolumen von 3.5ml:

Δ E/min x 2121 = mU/ml

Um die Wiederholbarkeit des Tests zu überprüfen, wurden die Aktivitäten derselben Serumprobe dreimal in halbstündigem Abstand gemessen. Es ergaben sich folgende Extinktionen:

Anfangswert:	1 min:	0.371	E = 0.004 = 8 mU/ml
	2 min:	0.365	
	3 min:	0.361	
	4 min:	0.359	
nach 30 min:	1 min:	0.238	E = 0.004 = 8 mU/ml
	2 min:	0.235	
	3 min:	0.231	
	4 min:	0.227	

nach 60 min:	1 min:	0.357	$\Delta E = 0.004 = 8$ mU/ml
	2 min:	0.354	
	3 min:	0.350	
	4 min:	0.346	

Es waren keine Abweichungen feststellbar.

3.1.6. Bilirubin im Serum

Die Analysen wurden mit Bilirubin-Test der chem. Fabrik Dr. Heinz Haury durchgeführt.

Prinzip:

Das im Serum vorhandene Bilirubin wird mit diazotierter Sulfanilsäure gekoppelt und bildet dabei in alkalischem Milieu einen grünen Azofarbstoff. Das Bilirubin-Glukuronid reagiert sofort mit dem Diazoreagens und ergibt den Wert für das direkte Bilirubin. Um das Gesamtbilirubin zu erfassen, wird es durch Zusatz einer Coffeinlösung aus seiner Eiweißverbindung freigesetzt. Aus der Differenz Gesamtbilirubin und direktem Bilirubin ergibt sich das indirekte Bilirubin. Wegen der Unbeständigkeit eines echten Bilirubinstandards wird als Standard eine beständige Farblösung herangezogen, deren Absoprtionskurve im angegebenen Wellenbereich mit einem echten Bilirubinstandard genau übereinstimmt.

Der Test enthält folgende Lösungen:

1. Farbstandard
2. Coffeinlösung
3. Fehling'sche Lösung
4. Sulfanilsäurelösung in Stabilisierungspuffer
5. Natriumnitritlösung-Konzentrat
   (1 Teil ist auf 100 Teile mit dest. Wasser zu verdünnen)
6. Physiologische Kochsalzlösung
7. Diazoreagens:
   9 Teile Sulfanilsäurelösung (Nr.4) werden mit 1 Teil verdünnter Natriumnitritlösung (Nr.5) gemischt.

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Filter Hg 578 nm, gemessen im Eppendorf-Photometer

Glasküvette: Schichtdicke 1 cm

Arbeitsgang:

Zuerst wird das Gerät mit der Standardlösung geeicht, wobei der Standard gegen dest. Wasser gemessen wird. Die Standardextinktion wurde für jede Packung nur einmal bestimmt. Mit ihr sind sämtliche Analysen berechnet.

	Ges. Bilir.	Direkt. Bilirub.	Serum Leerw.
Serum	0.5ml	0.5ml	0.5ml
Coffeinlösung	2.0ml	-	2.0ml
Physiolog.Kochsalzlsg.	-	2.0ml	0.1ml
Diazoreagens	0.1ml	0.1ml	-
	10 min stehen lassen dann	sofort zugeben	
Fehling'sche Lösung	1.5ml	1.5ml	1.5ml

Gesamt-Bilirubin wird innerhalb einer Stunde gegen den Serumleerwert gemessen, das direkte Bilirubin sofort nach Zugabe der Fehling'schen Lösung.

Berechnung:

$$\frac{\text{Extinktion Analyse Ges-Bilirubin}}{\text{Extinktion Standard}} \times 2.0 = \text{mg Gesamtbilirubin/100 ml}^{x)}$$

$$\frac{\text{Extinktion Analyse dir. Bilirubin}}{\text{Extinktion Standard}} \times 2.0 = \text{mg direktes Bilirubin/100 ml}^{x)}$$

Um die Wiederholbarkeit des Tests zu überprüfen, wurde bei 8 Analysen desselben Serums die Standardabweichung ermittelt:

x) mg Bilirubin/100 ml x 17,1 = μmol Bilirubin/l

Die einzelnen Proben ergaben folgende Gesamtbilirubinwerte in mg/ 100 ml:
0.26; 0.24; 0.26; 0.27; 0.26; 0.26; 0.28; 0.25.

Der Durchschnittswert betrug 0.26 mg/100 ml, die Standardabweichung 0.01 mg/ 100 ml, was einem Variationskoeffizienten vOn 3.8 % entspricht.

3.1.7. Hämoglobin im Blut

Die Analysen wurden durchgeführt nach der Cyanohämoglobinmethode (chem. Fabrik Dr. Haury).

Prinzip:
Das Hämoglobin des Blutes wird durch eine geeignete Reaktionslösung (Kaliumcyanid, Kaliumferricyanid, Monokaliumdihydrogenphosphat) in Cyanohämoglobin übergeführt. Bei der Bestimmung werden sämtliche in Frage kommenden Hämoglobinderivate erfaßt. Zum Vergleich dient eine Standardlösung, die 20 g/100 ml Hämoglobin entspricht.

Der Test enthält folgende Lösungen:

1. Cyanid-Reaktionslösung als haltbares Konzentrat: Sie ist 1:50 mit destilliertem Wasser zu verdünnen.
2. Cyanhämoglobin-Standard.

Bestimmungsansatz:

Wellenlänge: Filter Hg 546 nm, gemessen im Eppendorf-Photometer

Glasküvette: Schichtdicke 1 cm

Arbeitsgang:

1. Eichung des Photometers:
   Der Standard wird gegen Cyanid-Reaktionslösung als Leerwert gemessen.
2. Analyse:

Cyanid-Reaktionslösung verdünnt	5.0ml	Gut gemischt gegen Cyanid-Reaktionslösung
Blut	0.02ml	Als Leerwert gemessen

Berechnung:

$$\text{Ext.Analyse} + \frac{20}{\text{Ext. Standard}} = \text{g Hb/100 ml}^{x)}$$

Um die Wiederholbarkeit des Tests zu überprüfen, wurde bei 10 Analysen desselben Blutes die Standardabweichung ermittelt:

Die einzelnen Proben ergaben folgende Hämoglobinwerte in g/100 ml:

9.8; 9.5; 9.9; 9.7; 9.7; 9.6; 9.7; 9.9; 9.8; 9.6.

x) g Hämoglobin/100 ml x 0,6206 = mmol Hb/l

Der Durchschnittswert betrug 9.7 g Hb/100 ml Blut, die Standardabweichung 0.13 g Hb/ 100 ml, was einem Variationskoeffizienten von 1,3 % entspricht.

3.1.8. Eisenanalyse in Asche

Zur Eisenanalyse in Asche wurde der Eisenserum-Test von Boehringer Nr. 25947 (Bestimmungsansatz siehe 3.1.5.1.) verwendet.
Der Eisengehalt in Milchaustauscherproben wurde nach folgendem Schema ermittelt:
Es wurden 5 Proben desselben MA bei 600°C 12 Stunden verascht und folgender Aschegehalt ermittelt:

Probe 1:	Einwaage	22.1548 g
	Asche	1.5613 g
	Asche-% bezogen auf Einwaage:	7.05
Probe 2:	Einwaage	17.7042 g
	Asche	1.2452 g
	Asche-% bezogen auf Einwaage:	7.03
Probe 3:	Einwaage	20.9523 g
	Asche	1.4688 g
	Asche-% bezogen auf Einwaage:	7.01
Probe 4:	Einwaage	19.5678 g
	Asche	1.3768 g
	Asche-% bezogen auf Einwaage:	7.04

Probe 5: Einwaage: 19.4068 g

Asche 1.3660 g

Asche-% bezogen auf Einwaage: 7.04

Der Mittelwert des Aschegehalts des Milchaustauschers beträgt somit 7.03%.

Als Standardabweichung vom Mittelwert ergibt sich ein Prozentsatz von 0.02, was einem Variationskoeffizienten von 0.3% entspricht.

Berechnung des Eisengehalts:

Zur Bestimmung des Eisengehalts in den Ascheproben und gleichzeitig zur Überprüfung der Genauigkeit der Ascheanalyse wurden folgende drei Lösungen hergestellt:

Lösung 1: Eisen(II)-sulfat-Lösung mit einem Eisengehalt von 191 µg Fe/100 ml

Lösung 2: Aschelösung:

Die Einwaage Asche betrug 2.5956 g. Die Asche wurde mit HCl conc. sowie mit einigen Tropfen HNO_3 conc. und aqua bidest. aufgenommen. (Verhältnis etwa 1:1, Menge etwa 10 bis 15 ml). Diese Lösung wurde im Sandbad bis zur Trockne eingeengt und der Rückstand mit 5ml HCl conc. und beliebiger Menge (etwa 5 bis 15ml) aqua

bidest. wieder in Lösung gebracht und in einem 100ml-Meßkolben abfiltriert. Der Meßkolben wurde bis zum Eichstrich mit aqua bidest. aufgefüllt, Diese Lösung wurde 1 zu 10 verdünnt. Der pH-Wert betrug etwa 1.34 ebenso wie der pH-Wert der Standardlösung des Tests. Diese Lösung wurde als Ausgangslösung zur Bestimmung des Eisengehaltes von Milchaustauscherfutter verwendet.

Lösung 3: Gemisch von Lösung 1 und Lösung 2 im Verhältnis 1:1.

Analysenergebnis:

Lösung	Soll µg Fe/100ml	Ist µg Fe/100ml	Wiederauffindungsrate (%)
1	191	190	99
2	-	42	-
3	116	115	99

Der Eisengehalt wird rechnerisch aus dem Verdünnungsquotienten der Ausgangslösung sowie über die Ascheeinwaage ermittelt.

100 g Milchaustauscher enthalten 1.39 mg Fe.

1 kg Milchaustauscher enthalten 13.9 mg Fe = 13.9ppm.

Hinweis:

Der pH-Wert von 1.34 soll in der Aschelösung nicht unterschritten werden, da bei einer mehr sauren Reaktion der Farbkomplex der Lösung 4 des Tests nicht sofort, sondern nur sehr langsam und unvollständig gebildet wird, so daß die Analysengenauigkeit in Frage gestellt wäre.

Die pH-Abhängigkeit konnte durch folgenden Zusatzversuch nachgewiesen werden:

Ascheeinwaage: 2.7474 g.

Nach der nassen Veraschung, in gleicher Weise wie oben beschrieben durchgeführt, wurden von der unverdünnten Aschelösung (100ml) folgende 2 Lösungen hergestellt:

Lösung 1: Verdünnung 1 zu 5

Lösung 2: Verdünnung 1 zu 10

Die Messung im Eppendorf-Photometer, Hg 546 nm, d = 2 cm, nach Versetzen mit den Testlösungen ergab folgende Extinktionen:

$E_{Standard}$: 0.261; 0.265.

$E_{Lösung\ 1}$: 0.221; 0.218; 0.220; 0.220.

$E_{Lösung\ 2}$: 0.138; 0.137; 0.139; 0.136.

Während Standardlösung sowie Lösung2 konstant bleiben, veränderte sich die zu saure Lösung 1.
Der errechnete Eisengehalt für beide Lösungen schwankte folgendermaßen:

Lösung 1: 10.8 mg/kg MA; nach 14 Stunden: 11.6 mg/kg MA

Lösung 2: 13.2 mg/kg MA; nach 14 Stunden: 13.2 mg/kg MA

3.1.9. . Kupferbestimmung in der Asche

Die Kupferbestimmung in der Asche wurde analog der Eisenbestimmung durchgeführt, zur Analyse wurde der Kupferserumtest von Boehringer Nr. 15946 verwendet.

Für die Kupferanalyse wurden die durch die Veraschung zur Eisenanalyse gewonnenen Lösungen verwendet.

Die Messungen der einzelnen Lösungen ergaben folgende Cu-Gehalte:

Lösung 1: Verdünnung 1 zu 8: 568.3 µg Cu/100ml

Lösung 2: Verdünnung 1 zu 10: 582.6 µg Cu/100ml

Lösung 3: Verdünnung 1 zu 12: 581.8 µg Cu/100ml

Lösung 4: Verdünnung 1 zu 15: 586.5 µg Cu/100ml

Der durchschnittlich gefundene Kupfergehalt betrug 579.8 µg Cu.
Abweichung in % vom Durchschnittswert:

Lösung 1: 98.0%

Lösung 2: 100.5%

Lösung 3: 100.3%

Lösung 4: 101.2%

3.1.10. . Kupfer- und Eisenbestimmung in den Organen

Kupfer- und Eisenbestimmungen in den Organen wurden analog den Bestimmungen im Milchaustauscher durchgeführt.

Organtrockensubstanzen wurden wie Milchaustauscher verascht. Nach der nassen Veraschung wurden Ausgangslösungen zur Analyse ebenso wie zur Analyse beim Milchaustauscher hergestellt.

3.2. Versuch I 7.8.1970 bis 30.10.1970

Es sollte geprüft werden, ob und inwieweit der Zusatz von verschiedenen Spurenelementen und Mineralstoffen zu einem handelsüblich zusammengesetzten Milchaustauscher die durch einen erhöhten Kupfergehalt bedingte Intoxikation beim Mastkalb beeinflußt.

3.2.1. Versuchsanlage

33 Versuchstiere wurden in 11 Gruppen zu je drei Tieren aufgeteilt. Jeder Ration lag der Basismilchaustauscher zu Grunde, der entsprechend Tabellen 12 und 13 mit $CuSO_4 x\ 5\ H_2O$ und Spurenelementen bzw. Mineralstoffen ergänzt wurde.

Tab. 12: Versuchsanlage 1. bis 8. Versuchswoche

Basalmischung: Ca 0.99%; P 0.81%

Fe 14 ppm; Cu 1 ppm

Ration-Nr.	Zusätze				
	$Cu^{1)}$ ppm	$Mo^{2)}$ ppm	$SO_4{}^{3)}$ ppm	$Ca^{4)}$ ppm	$Fe^{5)}$ ppm
1	-	-	-	-	-
2	50	-	-	-	-
3	50	10	-	-	-
4	50	-	2000	-	-
5	50	10	2000	-	-
6	50	-	-	4000	-
7	50	-	-	-	40
8	100	-	-	-	-
9	100	10	-	-	-
10	100	10	2000	-	-
11	100	20	-	-	-

1) Cu als $CuSO_4 \times 5H_2O$

2) Mo als $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$

3) SO_4 als Na_2SO_4 und K_2SO_4

4) Ca als $CaCO_3$

5) Fe als $FeSO_4 \times 7\ H_2O$

Tab.13: Versuchsanlage 9. bis 12. Versuchswoche

Ration-Nr.	Zusätze				
	Cu ppm	Mo ppm	SO_4 ppm	Ca ppm	Fe ppm
1	-	-	-	-	-
2	100	-	-	-	-
3	100	20	-	-	-
4	100	-	2000	-	-
5	100	20	2000	-	-
6	100	-	-	4000	-
7	100	-	-	-	40
8	200	-	-	-	-
9	200	20	-	-	-
10	200	20	2000	-	-
11	200	40	-	-	-

3.2.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden vom Händler 33 weibliche Höhenfleckviehkälber mit einer mittleren Lebendmasse von 71 kg gekauft. Die Kälber wurden eine Woche vor Versuchsbeginn vorsichtig angefüttert und in Laufboxen mit Stroheinstreu gehalten. Vor Versuchsbeginn wurden die Tiere einzeln nummeriert und in 11 verschiedene Gruppen eingeteilt.

Tab.14: Aufteilung der einzelnen Kälber in die Gruppen

Ration-Nr.	Nummern der Kälber
1	1 - 2 - 3
2	4 - 5 - 6
3	7 - 8 - 9
4	10 - 11 - 12
5	13 - 14 - 15
6	16 - 17 - 18
7	19 - 20 - 21
8	22 - 23 - 24
9	25 - 26 - 27
IO	28 - 29 - 30
11	31 - 32 - 33

Die Kälber wurden entsprechend Abb. 3 im Raum verteilt.

Abb. 3: Verteilung der einzelnen Kälber im Raum.
Aufstallung in Strohboxen

32/33	29/30	26/27	23/24	20/21	17/18	14/15	11/12	8/9	5/6	2/3

Stallgasse

31	28	25	22	19	16	13	10	7	4	1

3.2.3. Fütterung der Versuchstiere

Die Kälber erhielten ein Milchaustauschfutter, dessen Zusammensetzung aus Tab. 15 hervorgeht.

Dieser Basalration wurden entsprechend den Versuchsgruppen (s. Tab. 12 und 13) Mo, SO_4, Ca bzw. Fe zu Lasten von Maisstärke zugesetzt.

Tab. 15: Zusammensetzung des Milchaustauschfutters (%)

Walzenmagermilchpulver	20.00
Sprühmagermilchpulver	25.00
Süßmolkenpulver	20.00
Fettmischung[1)]	30.00
L-Lysin-HCL	0.20
Weizenquellmehl	1.00
Aurofac[2)]	0.60
$CaCl_2$	0.10
$CaHPO_4 \times 2\ H_2O$	0.50
MgO	0.15
NaCl	0.20
Spurenelement- und Vitaminmischung[3)]	0.25
Maisstärke	2.00
	100.00

1) Fettmischung 50% auf Magermilchpulver für Milchaustauscher (%): Seetierfett 40.00; Rindertalg 35.0; Kokosöl 7.5; Palmkernöl 7.5; Sojaöl 5.0; Sojalecithin 5.0

2) Aurofac der Fa. Cyanamid München; 4 %ige CTC-Vormischung

3) Die Spurenelement- und Vitaminvormischung enthält in 2,5 g (= pro kg Milchaustauschfutter): Vitamin A 24000 IE; Vitamin D_3 3000 IE; Vitamin E 150 mg; Vitamin C 150 mg; Thiamin 2 mg; Riboflavin 5 mg; Pyridoxin 2 mg; Cholinchlorid 200 mg; Ca-Pantothenat 15 mg; Nikotinsäure 30 mg; Furazolidon 50 mg; DL-Methionin 500 mg; $FeSO_4 \times 7\ H_2O$ 15 mg; $MnSO_4 \times H_2O$ 50 mg; $ZnCO_3$ 50 mg;

Die Fütterung erfolgte individuell nach Körpergewicht (zweimal täglich um 7^{00}Uhr und 16^{00}Uhr). Die Futterzumessung ist dem Tränkplan der Tab. 16 zu entnehmen.

Tab. 16: Tränkplan

Fütterungswoche	Versuchswoche	Milchaustauschfutter/Tag in % des Körpergew.	g Milchaustauschfutter/ l Tränke
1		1.8	150
2	1	1.8	160
3	2	1.8	170
4	3	2.0	180
5	4	2.0	190
6	5	2.0	200
7	6	2.0	200
8	7	2.0	220
9	8	1.9	220
10	9	1.8	220
11	10	1.8	240
12	11	1.8	240
13	12	1.7	240

3.2.4. Versuchskriterien

Bei den 33 in verschiedene Gruppen aufgeteilten weiblichen Höhenfleckviehkälbern wurden wöchentlich Serumanalysen (Kupfer, Eisen, Calcium, Hämoglobin, GOT (2.6.1.1.), GPT (2.6.1.2.), Bilirubin (Gesamt)) durchgeführt sowie nach Beendigung der Versuchszeit der Eisen- und Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz ermittelt. Außerdem wurden die Kälber wöchentlich gewogen, um die durchschnittlichen Tageszunahmen und Futterverwertungen zu ermitteln.
Von jedem Kalb wurde wöchentlich eine Blutprobe aus der Vena jugularis entnommen. Die Blutentnahme erfolgte jeweils konstant 3 Stunden nach der morgendlichen Fütterung. Die Proben wurden durchschnittlich 60 min nach Entnahme 20 min lang bei 3600 Umdrehungen/min zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde mittels einer Pipette (Peleus-Ball) abgehebert und für die einzelnen Bestimmungen im Kühlschrank aufbewahrt (Bestimmung der Transaminasen wurde jeweils am Tage der Entnahme durchgeführt) bzw. tiefgefroren gelagert für Bestimmungen der Spurenelemente.

3.2.5. Ergebnisse

3.2.5.1. Milchaustauscheranalysen

Die verschiedenen Milchaustauschfutter der einzelnen Gruppen wurden während des Versuchs in etwa vierwöchigen Abständen insgesamt 4-mal auf ihren Kupfergehalt untersucht. Wie aus den Tabellen 17 bis 20 zu ersehen ist, entsprach der analytisch ermittelte Kupfergehalt ziemlich genau dem Sollwert.

Tab. 17: Kupfergehalt im Milchaustauscher der einzelnen Rationen bei der ersten Analyse

Ration	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist:Soll Vergleich (%)
1	-	3	-
2	50	52	104
3	50	53	106
4	50	48	96
5	50	53	106
6	50	54	108
7	50	50	100
8	100	95	95
9	100	102	102
10	100	104	104
11	100	97	97

Tab. 18 : Kupfergehalt im Milchaustauscher der einzelnen Rationen bei der zweiten Analyse

Ration	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist:Soll Vergleich (%)
1	-	2	-
2	50	51	102
3	50	48	96
4	50	54	108
5	50	53	106
6	50	49	98
7	50	52	104
8	100	103	103
9	100	103	103
10	100	99	99
11	100	102	102

Tab.19: Kupfergehalt im Milchaustauscher der einzelnen Rationen bei der dritten Analyse

Ration	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist:Soll Vergleich (%)
1	-	3	-
2	50	56	112
3	50	52	104
4	50	54	108
5	50	48	96
6	50	54	108
7	50	49	98
8	100	96	96
9	100	106	106
10	100	104	104
11	100	103	103

Tab. 20 : Kupfergehalt im Milchaustauscher der einzelnen Rationen bei der vierten Analyse

Ration	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist:Soll Vergleich (%)
1	-	2	-
2	100	103	103
3	100	106	106
4	100	98	98
5	100	97	97
6	100	105	105
7	100	102	102
8	200	204	102
9	200	206	103
10	200	196	98
11	200	198	99

3.2.5.2. Lebendmasse und Gewichtsentwicklung

Die einzelnen Kälber wurden zu Versuchsbeginn sowie in wöchentlichen Abständen über den gesamten Versuchszeitraum gewogen. Gewichtszunahmen und Futterverwertungen wurden in der 11. und 12. Versuchswoche wegen starker Durchfälle und erheblicher Tränkeverweigerungen nicht mehr errechnet.

Bis zur 10. Versuchswoche betrug die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme 1309 g, was bei weiblichen Mastkälbern als gut bezeichnet werden kann.

Die Unterschiede in der Gewichtsentwicklung zwischen den einzelnen Rationen sind nicht erheblich und zeigen keine deutlichen Tendenzen. Sie haben auf Grund der geringen Tierzahl (3) in jeder Gruppe nur orientierenden Charakter. Die Tabellen 21-24 informieren über die Lebendmasse/Kalb, die Tabellen 25-26 über die tägliche Gewichtszunahme. Tabelle 27 gibt einen Überblick über die kumulativen Werte von Gewichtsentwicklung und Futterverwertung.

Tab. 21: Lebendmasse der einzelnen Versuchstiere ab Versuchsbeginn in kg (Ration 1-3)

Ration-Nr.	(1)			(2)			(3)		
Zusätze	keine			50 ppm Cu			50 ppm Cu 10 ppm Mo		
Kalb-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-woche									
Versuchs-beginn	72	79	62	78	72	61	80	65	65
1	81	83	71	85	81	70	91	73	73
2	89	90	78	94	86	76	99	80	79
3	98	99	88	105	95	86	109	88	88
4	107	109	96	115	104	93	120	97	98
5	116	119	104	128	113	104	131	106	106
6	126	130	114	141	124	113	144	114	117
7	137	139	122	154	134	121	153	122	125
8	147	150	131	166	145	132	164	133	134
x) 9	159	163	141	179	154	142	177	142	145
10	170	175	151	192	166	152	188	152	152
11	179	183	156	199	174	157	195	157	162

x) Änderung der Cu-Dosierung (teilweise auch Mo) siehe Tab. 13

Tab. 22: Lebendmasse der einzelnen Versuchstiere ab Versuchsbeginn in kg (Ration 4-6)

Ration-Nr.	(4)			(5)			(6)		
Zusätze	50 ppm Cu 2000 SO_4			50 Cu, 10 Mo 2000 SO_4			50 Cu 4000 Ca		
Kalb-Nr.	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Versuchs-woche									
Versuchs-beginn	81	75	53	81	72	62	75	68	71
1	91	85	60	84	81	71	81	77	81
2	95	90	65	97	87	77	89	83	86
3	101	99	74	108	95	86	97	93	97
4	109	108	80	118	103	96	106	102	107
5	120	120	88	130	110	105	117	113	116
6	128	128	97	141	118	115	128	124	127
7	135	139	103	152	126	123	136	132	135
8	145	151	115	163	134	134	147	145	147
x) 9	154	160	125	173	140	143	160	154	155
10	164	170	133	181	152	155	171	165	166
11	171	175	139	186	156	162	178	170	172

x) Änderung der Cu-Dosierung (teilweise auch Mo) siehe Tab. 13

Tab. 23: **Lebendmasse der einzelnen Versuchstiere**

ab Versuchsbeginn in kg (Ration 7-9)

Ration-Nr.	(7)			(8)			(9)		
Zusätze	50. Cu 40 Fe			100 Cu			100 Cu 10 Mo		
Kalb-Nr.	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Versuchs-woche									
Versuchs-beginn	76	66	69	85	53	78	74	66	74
1	85	74	78	96	60	85	83	74	81
2	94	82	85	103	66	93	91	80	88
3	103	92	92	113	74	101	99	85	96
4	113	100	102	123	82	113	107	94	103
5	124	111	109	132	90	122	117	103	112
6	136	121	117	144	100	133	127	112	123
7	144	131	124	154	109	142	138	119	131
8	156	142	133	166	119	152	146	128	142
x) 9	166	152	141	177	130	161	154	136	152
10	173	162	152	186	139	172	159	135	162
11	177	171	156	189	-	172	-	-	161

x) Änderung der Cu-Dosierung (teilweise auch Mo)
siehe auch Tab. 13

Tab. 24: **Lebendmasse der einzelnen Versuchstiere ab Versuchsbeginn in kg (Ration10-11)**

Ration-Nr.	(10)			(11)		
Zusätze	100 Cu, 10 Mo 2000 SO_4			100 Cu 20 Mo		
Kalb-Nr.	28	29	30	31	32	33
Versuchswoche						
Versuchsbeginn	75	66	75	73	75	66
1	86	75	84	81	82	77
2	93	79	90	88	89	83
3	103	88	98	96	99	93
4	112	96	107	105	108	103
5	122	102	115	113	116	112
6	134	113	124	125	125	123
7	142	120	134	132	135	130
8	154	129	143	141	147	141
x) 9	166	136	153	150	156	151
10	176	144	164	159	168	161
11	171	142	166	160	171	162
12	170	140	170	160	170	160

x) Änderung der Cu-Dosierung (teilweise auch Mo) siehe Tab. 13

Tab. 25: Tägliche Gewichtszunahmen 1. bis 10. Versuchswoche (Ration 1 - 6) in g

Ration-Nr. und Zusätze in ppm	(1) -	(2) 50 Cu	(3) 50 Cu 10 Mo	(4) 50 Cu 2000 SO_4	(5) 50 Cu 10 Mo 2000 SO_4	(6) 50 Cu 4000 Ca
Vers.-Woche						
1	1047	1191	1286	1286	1000	1191
R	715	286	428	429	857	572
2	1048	952	1000	666	1190	905
R	143	572	286	143	1000	429
3	1334	1429	1286	1143	1333	1381
R	123	285	286	429	428	428
4	1286	1238	1429	1095	1334	1334
R	286	429	285	429	286	143
5	1286	1571	1333	1476	1333	1476
R	286	571	428	571	714	285
6	1476	1571	1524	1191	1381	1571
R	142	571	714	143	428	-
7	1333	1476	1191	1143	1286	1143
R	428	714	143	714	428	-
8	1429	1619	1476	1619	1524	1714
R	285	143	285	285	714	286
Änderung d. Zusätze	-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9	1667	1524	1571	1334	1191	1429
R	428	571	571	143	572	714
10	1667	1667	1333	1334	1524	1571
R	571	428	571	286	571	-

R = Spannweite

Tab.26: Tägliche Gewichtszunahmen 1. bis 10. Versuchswoche (Ration 7 - 11) in g

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100Cu	(9) 100Cu 10Mo	(10) 100Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		1238	1190	1143	1381	1238
	R	143	571	286	285	571
2		1143	1000	1000	809	952
	R	286	286	286	429	143
3		1238	1238	1000	1286	1334
	R	429	286	429	286	286
4		1334	1524	1143	1238	1334
	R	286	857	286	143	143
5		1381	1238	1334	1143	1191
	R	571	143	143	572	143
6		1429	1571	1429	1524	1524
	R	571	285	285	428	428
7		1191	1334	1338	1191	1143
	R	429	143	571	429	429
8		1524	1524	1333	1429	1571
	R	428	285	428	428	428
Änderung d. Zusätze		100Cu 40Fe	200Cu	200Cu 20Mo	200Cu 20Mo 2000 SO_4	200Cu 40Mo
9		1334	1476	1238	1381	1334
	R	286	285	286	714	143
10		1333	1381	714	1381	1476
	R	571	285	715	428	428

Tab. 27: Übersicht über die kumulativen Gewichtszunahmen und Futterverwertungszahlen 1. - 10. Versuchswoche

Ration	Gewichtszunahmen in g/Tag	R	Futterverwertung g Futter/ g Zunahme	R
(1)	1347	129	1.55	0.11
(2)	1424	343	1.50	0.12
(3)	1343	300	1.57	0.01
(4)	1229	214	1.64	0.43
(5)	1300	286	1.63	0.32
(6)	1371	29	1.48	0.21
(7)	1314	200	1.61	0.20
(8)	1338	214	1.58	0.34
(9)	1152	271	1.74	0.16
(10)	1276	329	1.66	0.15
(11)	1305	128	1.62	0.20

3.2.5.3. Blutuntersuchungen

3.2.5.3.1. Serumkupfer

Das Serumkupfer zeigte trotz Kupferverabreichung im Vergleich zur kupferfreien Kontrollgruppe keinen wesentlichen Anstieg (Tab. 28 und 29). Erst in der 12. Versuchswoche zeigte sich in den Rationen 8 - 11 (200 ppm Cu MAT) ein leichter Anstieg des Serumkupfers (Tab. 29). Besonders deutlich wurde der erhöhte Serumkupferwert bei einem Kalb der Ration 8, als bereits klinische Symptome erkennbar waren. Der Serumkupferwert stieg kurz vor dem Verenden des Versuchstieres auf 524 µg Cu/100 ml.

Tab. 28: Serumkupferwert in µg/100 ml

1. - 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
1		70	64	70	76	72	58
	R	30	39	10	19	17	14
3		70	66	64	131	78	60
	R	26	24	18	98	22	12
4		61	68	69	85	79	64
	R	23	15	15	35	25	1
5		57	62	74	145	107	66
	R	6	13	26	79	40	2
6		76	70	77	77	62	55
	R	63	44	63	58	5	5
7		66	102	72	70	69	65
	R	23	78	27	14	10	9
8		63	78	76	88	76	77
	R	12	11	30	30	21	15
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9		75	91	88	89	82	87
	R	15	42	26	14	7	33
10		81	69	84	83	94	84
	R	26	25	12	22	54	31
12		75	84	104	98	90	82
	R	6	29	11	29	34	12

Tab. 29: Serumkupferwert in µg/100 ml

1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		66	62	68	68	73
	R	6	17	9	6	13
3		62	78	62	126	69
	R	8	16	16	137	9
4		69	77	76	78	79
	R	14	13	13	35	13
5		63	77	68	103	76
	R	3	17	15	59	18
6		56	63	63	58	63
	R	5	10	10	23	5
7		71	77	76	71	73
	R	9	22	14	31	12
8		77	86	80	71	69
	R	7	15	33	27	13
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
9		94	94	78	78	87
	R	25	38	37	22	13
10		121	103	194	107	119
	R	60	70	27	35	24
12		94	252	138	110	107
	R	27	420	66	29	19

3.2.5.3.2. Serumeisen und Hämoglobin

Einige Serumeisenwerte lagen im Bezug zur Fe-Versorgung über den Milchaustauscher (ca. 14 ppm) ebenso wie die Hämoglobinwerte relativ hoch. Eine Beeinflussung der Serumeisen- und Hämoglobinwerte durch die Kupferzusätze kann aus den Ergebnissen (Tab. 30 - Tab. 33) nicht abgelesen werden.

Gruppe 7 (Zusatz von 40 ppm Fe) zeigt keinen signifikanten Unterschied (erhebliche individuelle Streuungen) zu den anderen Versuchsgruppen.

Tab. 30: Serumeisenwerte in µg/100 ml von der 1.- 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
1		123	255	215	75	119	121
	R	107	217	415	88	54	125
4		127	172	135	104	115	176
	R	123	121	225	61	118	133
5		246	340	222	129	156	222
	R	61	223	85	107	101	142
6		162	315	192	164	197	200
	R	95	193	239	22	182	189
8		52	115	102	136	77	118
	R	30	54	170	125	56	247
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
12		98	260	97	146	62	76
	R	90	52	156	75	66	30

Tab. 31: Serumeisenwerte in µg/100 ml von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		134	177	72	148	95
	R	34	179	43	146	120
4		388	138	33	95	101
	R	69	48	32	137	86
5		352	159	104	265	203
	R	205	65	98	119	130
6		341	131	82	251	111
	R	161	15	94	140	78
8		320	56	24	75	41
	R	228	15	18	10	15
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
12		297	73[1)]	62	233	160
	R	310	11	40	243	307

1) 1 Versuchstier dieser Gruppe hatte auf Grund starker Hämolyse einen Eisenserumgehalt von 977 µg/100 ml Serum. Dieser Wert wurde in der Tabelle nicht erfaßt.

Tab. 32: Hämoglobinwerte in g/100 ml Blut von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
1		9.6	11.4	11.8	9.7	10.4	9.8
	R	1.7	1.9	2.6	2.6	3.6	3.4
3		9.5	10.4	9.5	8.4	9.4	8.8
	R	1.1	1.4	2.7	2.8	1.5	2.1
4		9.1	10.8	10.0	8.7	9.4	8.7
	R	1.2	2.0	4.7	2.8	3.6	2.0
5		9.0	9.7	8.2	8.6	8.8	8.4
	R	0.6	1.3	2.2	1.7	1.9	1.0
6		7.8	9.7	8.2	8.1	8.1	8.5
	R	1.8	0.7	2.0	1.9	1.2	2.0
7		8.2	10.3	8.6	8.4	8.7	8.9
	R	2.0	1.0	2.6	1.4	0.7	1.2
8		8.7	9.4	8.3	8.3	8.7	8.5
	R	1.1	0.5	2.3	1.2	1.1	1.6
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9		9.4	9.9	9.0	9.4	9.0	8.9
	R	1.5	0.0	3.3	1.6	0.3	0.4
10		9.5	9.5	8.7	8.7	9.0	9.1
	R	2.6	1.6	3.1	1.0	0.7	1.6
11		9.7	10.3	8.4	8.5	9.5	8.9
	R	1.9	0.5	2.1	1.3	1.1	0.7
12		9.9	9.8	8.9	9.3	9.7	9.4
	R	2.3	0.8	1.8	0.7	0.9	0.3

Tab. 33: Hämoglobinwerte in g/100ml Blut von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		10.6	11.4	10.7	9.6	10.2
	R	1.9	0.1	4.6	4.6	2.4
3		10.00	9.6	8.9	10.4	10.0
	R	1.5	1.9	3.0	2.0	2.8
4		9.4	9.5	8.6	10.1	9.7
	R	2.1	1.0	2.4	2.8	4.3
5		8.9	8.6	7.9	9.5	8.8
	R	1.0	0.9	0.9	2.8	2.3
6.		9.1	8.1	7.5	9.6	8.5
	R	0.9	0.2	1.1	3.0	1.6
7		9.9	8.1	8.0	9.9	9.1
	R	0.1	0.7	1.9	1.2	2.3
8		9.6	7.7	7.4	9.8	8.6
	R	0.7	0.8	0.7	1.4	1.4
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
9		9.7	8.1	7.1	9.7	8.1
	R	1.5	1.4	1.2	0.7	1.0
10		10.4	8.0	6.7	9.8	8.5
	R	1.6	3.3	0.4	0.9	0.6
11		9.9	8.2	6.5	9.8	8.4
	R	2.9	0.8	0.1	1.2	1.9
12		10.4	10.4	5.8	10.7	8.0
	R	2.3	6.0	5.0	1.8	1.6

3.2.5.3.3. Serumcalcium

Die Serumcalciumwerte liegen alle im physiologischen Bereich und zeigen keine Gruppenunterschiede.(Tab.34 u.35)

Tab. 34: Serumcalcium in mg/100ml von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
1		9.8	8.7	8.8	8.7	8.2	9.2
	R	0.4	1.3	2.0	3.2	1.2	1.9
3		9.6	9.2	9.8	10.1	9.4	9.8
	R	1.1	0.7	0.4	0.5	1.9	0.4
4		9.7	9.7	9.3	9.7	9.6	12.0
	R	1.1	2.1	1.6	1.6	1.7	4.4
5		9.2	8.9	8.3	9.6	10.4	9.1
	R	1.0	0.5	1.8	0.5	1.4	0.9
6		9.2	9.0	9.5	9.6	9.7	10.1
	R	1.4	1.3	0.5	2.2	2.0	2.0
8		10.4	10.0	10.0	9.5	9.7	9.7
	R	1.6	2.2	1.6	0.5	1.0	0.4
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9		10.2	10.1	9.5	9.7	9.5	10.2
	R	1.3	2.0	1.0	0.8	0.9	0.4
10		10.2	9.8	9.6	9.6	9.6	9.8
	R	1.5	1.2	1.4	0.4	0.4	1.2

Tab 35: Serumcalciumwerte in mg/100ml von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		9.5	9.5	9.4	8.6	9.5
	R	0.7	1.9	0.6	2.3	0.6
3		10.0	10.4	10.4	9.6	10.1
	R	1.0	0.6	0.7	2.2	0.6
4		9.9	10.2	10.6	9.8	9.3
	R	1.9	1.0	0.2	1.2	1.1
5		8.3	8.4	7.9	9.2	8.5
	R	1.9	1.0	2.8	0.3	2.1
6		9.5	9.4	9.1	9.8	9.4
	R	1.2	1.4	2.0	0.5	0.9
8		10.6	10.0	10.1	9.5	9.3
	R	0.5	0.9	0.6	0.9	0.8
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
9		10.3	10.3	10.2	9.7	9.7
	R	1.9	1.1	0.9	1.1	0.8
12		10.2	10.1	9.9	9.6	9.3
	R	1.7	0.9	1.2	0.6	0.5

3.2.5.3.4. Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Die Werte der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) bewegten sich bei der Kontrollgruppe (ohne Kupferzusatz) von der ersten bis zur letzten Versuchswoche im Normalbereich, während bei allen anderen Gruppen (Tab 36 und 37) gegen Versuchsende die Werte deutlich erhöht waren. Am höchsten stieg der Wert der GOT bei einem Kalb der Ration 8 (200 ppm Cu) während der klinischen Erscheinungen der chron. Kupfervergiftung. Die GOT erreichte mit Beginn der hämolytischen Phase einen Wert von 276 mU. 6 Tage später stieg der Wert von 550 mU 12 Stunden vor Exitus auf 1120 unmittelbar vor dem Tode.

Während bei allen Gruppen die Werte gegen Versuchsende kontinuierlich anstiegen, zeigte Ration 11 (Zusatz von 20 ppm Mo) nach Erreichen eines kritischen Durchschnittswertes von 163 mU in der 10. Versuchswoche einen deutlichen Abfall auf durchschnittlich 83 mU in der 12. Versuchswoche.

Wie aus den Tabellen 36 und 37 zu ersehen ist, liegen bei den Rationen 2 - 7 (50 bzw. 100 ppm Cu) im Durchschnitt Ration 2 (kein weiterer Zusatz) und Ration 6 (Zusatz von 4000 ppm Ca) um die Hälfte niedriger. Bei den Rationen 8 - 11 (100 bzw. 200

ppm Cu) zeigt im Durchschnitt Ration 8 (keine weiteren Zusätze), jedoch mit erheblichen individuellen Schwankungen, den größten Anstieg.

Tab. 36: GOT-Werte in mU / ml Serum von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
1		41	41	41	39	29	32
	R	31	14	34	22	20	12
3		36	25	27	26	26	31
	R	21	4	11	6	5	20
4		30	25	27	27	24	28
	R	11	5	11	13	4	15
5		25	23	24	27	27	26
	R	7	4	9	15	11	7
6		29	27	28	35	31	28
	R	7	7	13	23	24	5
7		27	26	26	32	28	27
	R	3	5	13	22	13	9
8		23	22	26	29	25	20
	R	4	6	9	24	15	4
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9		17	24	33	42	28	20
	R	4	19	26	49	21	8
10		23	34	57	76	45	35
	R	15	26	55	70	31	14
11		22	37	65	86	89	42
	R	13	27	80	40	104	25
12		24	38	75	92	103	44
	R	2	23	67	51	157	34

Tab. 37: GOT-Werte in mU / ml Serum von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration.-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		41	28	32	36	31
	R	26	13	19	17	7
3		33	31	25	30	26
	R	14	7	14	5	8
4		31	34	26	30	28
	R	9	4	11	6	15
5		27	29	25	28	27
	R	7	2	13	9	7
6		37	48	56	37	30
	R	6	42	100	28	15
7		38	42	52	35	30
	R	21	38	87	26	9
8		38	31	48	30	28
	R	25	17	77	15	15
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
9		49	44	51	61	96
	R	4	38	60	61	129
10		67	108	64	85	163
	R	55	124	62	57	216
11		94	138	77	120	148
	R	72	229	53	95	254.
12		78	404	179	117	83
	R	53	1082	278	130	48

3.2.5.3.5. Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Die Werte der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) waren im letzten Drittel des Versuchs im Vergleich zur kupferfreien Kontrollgruppe bei allen Gruppen erhöht. Am höchsten stieg die GPT bei einem Kalb der Ration 8 (200 ppm Cu) während der klinischen Erscheinungen der chron. Kupfervergiftung. Mit Beginn der hämolytischen Phase lag die GPT bei 55 mU/ml, 6 Tage später 12 Stunden vor Exitus bei 127 mU und unmittelbar vor Exitus bei 470 mU.

Ebenso erreichte bei einem Kalb der Ration 11 (200 ppm Cu + 40 ppm Mo) die GPT zum gleichen Zeitpunkt wie bei oben erwähntem Kalb - 6 Tage vor Versuchsende - einen Wert von 57 mU/ml, der jedoch 6 Tage später wieder auf 28 mU gesunken war.
Im Durchschnitt waren die GPT-Werte in den Rationen 2 (Kupfer ohne weiteren Zusatz) und 6 (Kupfer mit Zusatz von 4000 ppm Ca) am wenigsten erhöht. Von den hoch mit Kupfer belasteten Rationen 8-11 (im letzten Versuchsdrittel 200 ppm Cu) war die Erhöhung der GPT am Versuchsende bei Ration 10 (Zusatz von 40 ppm Mo + 2000 ppm SO_4) und Ration 11 (Zusatz 40 ppm Mo) deutlich geringer als bei Ration 8 (ohne Zusatz) und Ration 9 (Zusatz von 20 ppm Mo).

Tab. 38: GPT-Werte in mU/ ml Serum von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
1		14	13	10	20	10	16
	R	6	4	1	24	2	10
3		9	9	10	10	10	11
	R	3	3	2	3	3	7
4		10	9	9	7	7	11
	R	3	5	3	2	2	-
5		7	7	7	9	8	9
	R	2	2	2	3	5	3
6		9	8	8	11	10	8
	R	3	5	5	-	5	-
7		9	10	8	12	10	9
	R	3	5	5	2	5	3
8		9	11	8	12	10	10
	R	3	5	5	7	5	3
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9		5	10	11	16	11	9
	R	2	9	9	14	5	5
10		8	9	16	14	10	10
	R	5	7	15	10	5	3
11		7	7	12	15	18	9
	R	2	2	9	4	8	5
12		9	14	22	32	26	16
	R	3	6	17	21	34	8

Tab. 39: GPT-Werte in mU/ ml Serum von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
1		13	9	13	11	8
	R	16	1	8	4	2
3		11	10	10	10	9
	R	6	4	1	2	5
4		10	11	10	12	12
	R	3	7	3	4	2
5		10	11	9	10	10
	R	3	-	7	5	3
6		11	12	16	11	9
	R	-	9	24	5	5
7		12	11	16	12	9
	R	2	7	20	7	3
8		13	10	15	12	9
	R	4	3	15	9	3
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
9		17	14	15	18	26
	R	4	9	15	14	34
10		12	21	11	15	34
	R	4	19	7	10	45
11		21	32	22	25	31
	R	19	38	17	23	40
12		24	166	72	35	23
	R	21	459	117	44	9

3.2.5.3.6. Gesamtbilirubin im Serum

Deutliche Erhöhungen des Gesamtbilirubins (Tab. 40 und 41) zeigten sich bei Versuchsende gegenüber der Kontrollgruppe (0.12 mg/100 ml) nur in den hoch mit Kupfer belasteten Gruppen 8 - 11.

Tab. 40: Gesamtbilirubin im Serum in mg/100 ml von der 1.- 12. Versuchswoche (Ration 1-6)

Ration-Nr. und Zusätze in ppm		(1) -	(2) 50Cu	(3) 50Cu 10Mo	(4) 50Cu 2000 SO_4	(5) 50Cu 10Mo 2000 SO_4	(6) 50Cu 4000 Ca
Vers.-Woche							
3		0.22	0.29	0.25	0.26	0.32	0.37
	R	0.09	0.07	0.03	0.15	0.21	0.25
4		0.23	0.24	0.24	0.23	0.15	0.12
	R	0.17	0.08	0.08	0.12	0.11	0.08
5		0.07	0.08	0.09	0.09	0.06	0.06
	R	0.03	0.04	0.07	0.01	0.04	0.04
6		0.11	0.11	0.09	0.11	0.09	0.08
	R	0.08	0.03	0.05	0.03	0.09	0.02
8		0.11	0.08	0.09	0.07	0.08	0.08
	R	0.08	0.04	0.02	0.03	0.03	0.03
Änderung d. Zusätze		-	100 Cu	100 Cu 20Mo	100 Cu 2000 SO_4	100 Cu 20Mo 2000 SO_4	100 Cu 4000 Ca
9		0.08	0.12	0.08	0.15	0.12	0.10
	R	0.01	0.06	0.11	0.20	0.07	0.05
10		0.06	0.10	0.09	0.16	0.17	0.12
	R	0.01	0.05	0.05	0.20	0.03	0.05
11		0.12	0.16	0.15	0.15	0.17	0.14
	R	0.01	0.05	0.02	0.02	0.06	0.03

Tab. 41: Gesamtbilirubin im Serum in mg/100 ml

von der 1. - 12. Versuchswoche (Ration 7-11)

Ration.-Nr. und Zusätze in ppm		(7) 50Cu 40Fe	(8) 100 Cu	(9) 100 Cu 10Mo	(10) 100 Cu 10Mo 2000 SO_4	(11) 100 Cu 20Mo
Vers.-Woche						
3		0.36	0.38	0.52	0.38	0.50
	R	0.24	0.22	0.26	0.17	0.17
4		0.18	0.14	0.18	0.10	0.12
	R	0.19	0.04	0.02	0.04	0.08
5		0.07	0.10	0.11	0.07	0.08
	R	0.05	0.03	0.06	0.02	0.04
6		0.09	0.10	0.09	0.13	0.12
	R	0.01	0.12	0.03	0.07	0.06
8		0.07	0.07	0.15	0.07	0.08
	R	0.03	0.02	0.20	0.02	0.03
Änderung d. Zusätze		100 Cu 40Fe	200 Cu	200 Cu 20Mo	200 Cu 20Mo 2000 SO_4	200 Cu 40Mo
9		0.11	0.14	0.33	0.15	0.18
	R	0.04	0.05	0.60	0.17	0.05
10		0.15	0.18	1.12.	0.19	0.25
	R	0.05	0.16	2.90	0.09	0.19
12		0.14	1.44	1.15	0.47	0.69
	R	0.03	3.84	0.56	0.61	0.81

3.2.5.4. Untersuchungen der Lebertrockensubstanz auf Eisen- und Kupfergehalt

Der Gehalt an Eisen in der Lebertrockensubstanz lag mit Ausnahme der Ration 2 und 6 bei allen Gruppen im Durchschnitt zwischen 161 und 316 ppm (Tab. 43).

Bei Ration 2 (50 bzw. 100 ppm Cu ohne weiteren Zusatz) war der Eisengehalt mit einem Durchschnitt der drei Versuchskälber von 604 ppm auffällig hoch. Obwohl die Streubreite in dieser Gruppe von 343 bis 1014 ppm ging, ist dennoch der niedrigste Gehalt von 343 ppm Fe höher als die Durchschnittswerte aller anderen Rationen.

Bei Ration 6 (50 bzw. 100 ppm Cu + 4000 ppm Ca) dagegen war der Eisengehalt mit einem Durchschnitt der drei Versuchskälber von 94 ppm auffällig niedrig. Die Einzelwerte bewegten sich in dieser Gruppe zwischen 55 und 124 ppm, so daß auch hier der höchste Eisengehalt von 124 ppm dennoch geringer als der niedrigste Durchschnittswert aller anderen Rationen ist.(Tab. 43)

Der Gehalt an Kupfer in den Lebertrockensubstanzen lag in allen mit Kupfer belasteten Rationen um ein Vielfaches über dem Gehalt an Kupfer in der Kontrollgruppe (Tab. 42).

Den relativ geringsten Gehalt an Kupfer in der Lebertrockensubstanz zeigte im Durchschnitt Gruppe 6 (Zusatz von 4000 ppm Ca) mit 1227 ppm (Einzelwerte von 855 bis 1639 ppm), während der durchschnittliche Gehalt der Leber aller anderen mit Kupfer belasteten Gruppen 2093 ppm betrug.

Tab. 42: Gehalt der Lebertrockensubstanz der einzelnen Versuchstiere an Kupfer und Eisen in ppm

Ration-Nr.	Zusätze in ppm	Vers.-Tier	Cu	Fe
(1)		1	111	164
		2	196	279
		3	90	178
(2)	50 Cu	4	1846	343
		5	1875	454
		6	1763	1014
(3)	50 Cu 10 Mo	7	1538	122
		8	1775	148
		9	2717	236
(4)	50 Cu 2000 SO_4	10	1939	134
		11	1138	166
		12	2377	331
(5)	50 Cu 10 Mo 2000 SO_4	13	1968	175
		14	1639	255
		15	2349	172
(6)	50 Cu 4000 Ca	16	855	124
		17	1639	55
		18	1186	104
(7)	50 Cu 40 Fe	19	2166	192
		20	1938	270
		21	2136	175
(8)	100 Cu	22	1106	271
		23	3855	282
		24	1310	121
(9)	100 Cu 10 Mo	25	1579	199
		26	2455	585
		27	1968	164
(10)	100 Cu 10 Mo 2000 SO_4	28	1718	167
		29	3053	140
		30	1500	177
(11)	100 Cu 20 Mo	31	3543	117
		32	3673	226
		33	1551	587

Von der 9. bis zur 12. Versuchswoche wurden folgende Zusätze erhöht:
Ration 2 bis 7: Kupfer von 50 ppm auf 100 ppm
Ration 9 bis 11: Kupfer von 100 ppm auf 200 ppm
Ration 3,5,9,10: Molybdän von 10 ppm auf 20 ppm
Ration 11: Molybdän von 20 ppm auf 40 ppm

Tab.43: Gehalt der Lebertrockensubstanz im Durchschnitt der einzelnen Rationen an Kupfer und Eisen in ppm

Ration.-Nr.	Zusätze in ppm	Cu	Fe
(1)		132	207
		R 106	R 115
(2)	50 Cu	1828	604
		R 112	R 671
(3)	50 Cu 10Mo	2027	169
		R 1129	R 197
(4)	50 Cu 2000 SO_4	1818	210
		R 1239	R 197
(5)	50 Cu 10 Mo 2000 SO_4	1985	201
		R 710	R 83
(6)	50 Cu 4000 Ca	1227	94
		R 784	R 69
(7)	50Cu 40 Fe	2080	212
		R 228	R 95
(8)	100 Cu	2090	225
		R 2749	R 161
(9)	100 Cu 10 Mo	2001	316
		R 876	R 421
(10)	100 Cu 10 Mo 2000 SO_4	2090	161
		R 1553	R 37
(11)	100 Cu 20 Mo	2922	310
		R 2122	R 470

3.3. Versuch II 3.6.71 - 1.7.71

Es sollte geprüft werden, welchen Einfluß eine orale Zufuhr von Penicillamin auf die durch einen erhöhten Kupfergehalt im Milchaustauschfutter bedingte Intoxikation beim Mastkalb hat. Da D-Penicillamin nicht zur Verfügung stand, wurde DL-Penicillamin verwendet. Zudem wurde nochmals der Einfluß von Molybdän und Calcium untersucht. Hinsichtlich des Molybdänzusatzes sollte geprüft werden, ob ein in Versuch I ausgebliebener Mo-Effekt eventuell auf die sehr weite Cu-Mo-Dosisrelation zurückgeführt werden könnte. Deshalb wurde hier die Mo-Ergänzung auf 150 ppm erhöht.

Eine Calcium-Gruppe wurde als Wiederholung von Versuch I eingerichtet, da das Ergebnis von Versuch I mit 4000 ppm Ca eine Beeinflussung des Cu-Stoffwechsels vermuten läßt, die nicht erwartet werden konnte (s. HOGDE und PALMER, 1973).

3.3.1. Versuchsanlage

8 Versuchstiere wurden in 4 Gruppen zu je zwei Tieren aufgeteilt. Jeder Ration lag als Basisfutter ein Milchaustauscher aus dem Handel zu Grunde, der entsprechend Tab. 44 mit Zusätzen versehen wurde.

Tab. 44: Versuchsanlage

Ration-Nr.	Zusätze ab Beginn des Versuchs	Zusätze nach Erreichen eines Serum-GOT-Wertes von mehr als 100 mU
1	200 ppm Cu[1)]	(ohne Cu)
2	200 ppm Cu	1 Tier: 4 Mahlzeiten mit je 5 g Penicillamin 1 Tier: 6 Mahlzeiten mit je 5 g Penicillamin
3	200 ppm Cu 150 ppm Mo[2)]	(ohne Cu)
4	200 ppm Cu 4000 ppm Ca [3)]	(ohne Cu)

1) Cu als $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$
2) Mo als $Na_2MoO_4 \cdot 2 H_2O$
3) Ca als $CaCO_3$

3.3.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden vom Händler 8 weibliche Höhenfleckviehkälber mit einer mittleren Lebendmasse von 90 kg gekauft. Die Kälber wurden drei Tage vor Versuchsbeginn vorsichtig angefüttert und in Lattenrostboxen gehalten. Vor Versuchsbeginn wurden die Tiere einzeln nummeriert und in 4 verschiedene Gruppen aufgeteilt.

Tab. 45: Aufteilung der einzelnen Kälber in die Gruppen

Ration-Nr.	Nummern der Kälber
1	1 und 5
2	2 und 3
3	6 und 7
4	4 und 8

3.3.3. Fütterung der Versuchstiere

Die Kälber erhielten Milchaustauschfutter aus dem Handel, dem entsprechend der Versuchsanlage (Tab.44) Cu, Ca bzw. Mo zugesetzt war. Die Fütterung erfolgte individuell nach Körpergewicht (zweimal täglich um 7^{00} Uhr und 16^{00} Uhr). Die Futterzumessung ist dem Tränkplan (Tab. 46) zu entnehmen.

Tab. 46:Tränkplan

Versuchswoche	Milchaustauschfutter/Tag in % des Körpergew.	g Milchaustauschfutter/ 1 Tränke
1	2.0	160
2 - 4	2.0	200

3.3.4. Versuchskriterien

Bei den 8 in verschiedene Gruppen aufgeteilten weiblichen Höhenfleckviehkälbern wurden ab dem 10. Versuchstag in ein- bzw. zweitägigen Abständen Serumanalysen durchgeführt. Nach Erreichen eines Serum-GOT-Wertes von mehr als 100 mU/100 ml Serum wurden die Zusätze zum Milchaustauscher entsprechend Tab. 44 abgeändert. Die Blutentnahme erfolgte aus der Vena jugularis jeweils 3 Stunden nach der morgendlichen Fütterung. Die Behandlung der Blutproben sowie die Analysen wurden wie in Versuch I durchgeführt.
Die Versuchstiere wurden wöchentlich einmal gewogen.
Nach Versuchsende wurde der Cu-Gehalt der Lebertrockensubstanz ermittelt.

3.3.5. Ergebnisse

3.3.5.1. Milchaustauscheranalysen

Die verschiedenen Milchaustauscher der einzelnen Rationen wurden während des Versuchs zweimal auf ihren Kupfergehalt untersucht. Wie aus den Tabellen 47 und 48 hervorgeht, entsprach der analytisch ermittelte Kupferwert in brauchbarer Weise dem Sollwert.

Tab. 47 : Kupfergehalt im Milchaustauscher der einzelnen Rationen: 1. Mischung

Ration	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist: Soll Vergleich (%)
1	200	208	104
2	200	210	105
3	200	198	99
4	200	204	102

Tab. 48: Kupfergehalt im Milchaustauscher der einzelnen Rationen: 2. Mischung

Ration	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist:Soll Vergleich (%)
1	200	206	103
2	200	196	98
3	200	210	105
4	200	208	104

3.3.5.2. Lebendmasse und Gewichtsentwicklung

Die einzelnen Kälber wurden zu Versuchsbeginn sowie wöchentlich einmal gewogen. Die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme betrug 856 g.
Die Unterschiede in der Gewichtsentwicklung zwischen den einzelnen Kälbern sind beachtlich. Sie lassen jedoch aufgrund der geringen Tierzahl keine behandlungsbedingten Unterschiede erkennen. Kalb 4 (Gruppe 4) verendete am 16. Versuchstag.

Tab. 49: Gewichte der einzelnen Versuchstiere ab Versuchsbeginn in kg

Versuchs-woche	Ration-Nr.	1		2		3		4	
	Zusätze in ppm	200 Cu		200 Cu		200 Cu 150 Mo		200 Cu 4000 Ca	
	Kalb-Nr.	1	5	2	3	6	7	4	8
Vers.Beg.		89	93	92	87	101	84	94	81
1		96	98	99	91	106	87	98	83
2		108	103	105	101	112	96	102	91
3		118	107	112	107	116	103	-	96
	Änderung d. Zus.	ohne Cu		ohne Cu Penicill-amin 20g	30g	ohne Cu		ohne Cu	
4		128	110	119	113	120	110	-	100

Tab. 50: Durchschnittliche Gewichtszunahmen in g/Tag während des gesamten Versuches (28 Tage)

Ration-Nr.	Zusätze x)	Ø Gewichtszunahme g/Tag
1	200 ppm Cu	1000
		R 785
2	200 ppm Cu	946
	DL-Penicillamin	R 35
3	200 ppm Cu	804
	150 ppm Mo	R 250
4	200 ppm Cu 4000 ppm Ca	679 1)

1) Kalb Nr. 4 wurde nicht berücksichtigt.

3.3.5.3. Blutuntersuchungen

3.3.5.3.1. Serumkupfer

Die Unterschiede der Serumkupferwerte zwischen den einzelnen Rationen (Tab, 51) zeigen keine deutlichen Tendenzen. Lediglich bei Kalb 4 der Ration 4 stieg am 16. Versuchstag der Serumkupferwert auf 471 µg/100 ml. Das Kalb verendete noch am gleichen Tag.

x) Die Dauer der Kupferzuführung bei den einzelnen Versuchskälbern kann den Tabellen 51 - 54 entnommen werden.

Tab. 51: Serumkupferwerte in µg/100 ml

Versuchstag	Ration-Nr.	1		2		3		4	
	Zusätze in ppm	200 Cu		200 Cu		200 Cu 150 Mo		200 Cu 4000 Ca	
	Kalb-Nr.	1	5	2	3	6	7	4	8
Vers.Beg.		85	111	111	82	90	95	98	108
10		89	121	142	96	94	94	110	112
16		84	125	109	88	92	96	472	129
18		88	152	118	114	114	128		124
19			144				152		
20		124		132	116	144			146
21					106	146			113
22		180			106	132			88
	Änderung d. Zus.	ohne Cu		ohne Cu	Penicillamin 20g 30g	ohne Cu		ohne Cu	
20			124				107		
22			124	118			120		
24		73	119	82	76	164	122		100
26		140	125	127	80	98	80		106
27		154	128	116	90	102	96		104

Kalb Nr. 4 verendete am 16. Versuchstag

3.3.5.3.2. Hämoglobinwerte im Blut

Die Hämoglobinwerte zeigen zwischen den einzelnen Rationen (Tab. 52) keine wesentlichen Unterschiede, die auf eine Beeinflussung durch die gewählten Futterzusätze schließen lassen. Kalb 4 zeigte unmittelbar vor dem Tod einen Anstieg des Hb-Wertes auf 15.9 g/100 ml.

Tab. 52: Hämoglobinwerte in g/100 ml Blut

Versuchstag	Ration-Nr.	1		2		3		4	
	Zusätze in ppm	200 Cu		200 Cu		200 Cu 150 Mo		200 Cu 4000 Ca	
	Kalb-Nr.	1	5	2	3	6	7	4	8
Vers.Beg.		9.8	12.1	11.2	9.7	10.3	9.2	12.0	11.7
10		10.3	12.2	11.5	9.5	10.1	9.0	12.3	11.2
16		10.1	11.7	11.8	9.6	10.0	8.7	15.9	11.6
18		10.2	11.8	10.9	9.4	9.9	8.9		11.8
19			11.0				9.1		
20		10.0		10.7	9.5	10.2			10.9
21					8.8	9.9			10.5
22		9.9			8.8	9.7			10.7
	Änderung d. Zus.	ohne Cu		ohne Cu Penicillamin 20g	30g	ohne Cu		ohne Cu	
20			11.1				9.0		
22			11.5	9.7	9.2		9.2		
24		9.7	11.3	10.1	9.4	10.0	9.8		10.2
26		9.7	12.1	10.8	9.3	10.1	10.3		10.4
27		10.2	12.4	11.3		10.3	10.1		10.6

3.3.5.3.3. Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminasen (GOT) erreichten bei allen Versuchstieren zwischen dem 19. und 22. Versuchstag Werte von mehr als 100 mU/ml Serum. Bei allen Versuchstieren gingen die Werte nach Absetzen der Kupferzufuhr wieder unter 100 mU zurück. Kalb 4 der Ration 4 verendete am 16. Versuchstag noch vor Absetzen der Kupferzufuhr und hatte am Tage des Todes einen GOT-Wert von 1820 mU. Nur bei Kalb Nr. 5 (Ration 1 ohne andere Zusätze) stieg der GOT-Wert nach anfänglichem Absinken unter 100 mU am Versuchsende wieder über 100 mU, obwohl keine weitere erhöhte Kupferzufuhr erfolgte. Wie aus Tab. 53 zu ersehen ist, zeigen sich sonst keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.3.5.3.4. Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Die Werte der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) verhielten sich in etwa analog den Werten der GOT. Sie erreichten bei allen Versuchstieren vor Absetzen der Kupferzufuhr kritische Werte zwischen 19 und 55 mU/ml Serum.
Auch diese Werte fielen in allen Gruppen ohne

markante Unterschiede nach Absetzen der Kupferzufuhr ab.

Bei Kalb 4 (Gruppe 4) stieg der GPT-Wert kurz vor dem Tode am 16. Versuchstag auf 680 mU.

Tab. 53: GOT-Werte in mU / ml Serum

Versuchs-tag	Ration-Nr.	1		2		3		4	
	Zusätze in ppm	200 Cu		200 Cu		200 Cu 150 Mo		200 Cu 4000 Ca	
	Kalb-Nr.	1	5	2	3	6	7	4	8
Vers.Beg.		17	47	23	23	25	23	28	21
10		19	40	21	25	29	38	42	49
16		30	64	53	32	40	30	1820	36
18		45	78	66	62	57	95		55
19			125				134		
20		57		318	85	70			78
21					66	68			49
22		151			106	148			191
	Änderung d. Zus.	ohne Cu		ohne Cu Penicill-amin 20g	30g	ohne Cu		ohne Cu	
20			132				64		
22			129	119			110		
24		57	70	57	49	42	38		66
26		66	72	53	64	47	40		59
27		49	104	83	40	72	40		45

Tab. 54: GPT-Werte in mU/ ml Serum

Versuchs-tag	Ration-Nr.	1		2		3		4	
	Zusätze in ppm	200 Cu		200 Cu		200 Cu 150 Mo		200 Cu 4000 Ca	
	Kalb-Nr.	1	5	2	3	6	7	4	8
Vers.Beg.		6	11	6	8	8	6	11	8
10		6	6	6	6	6	11	11	11
16		6	19	13	11	13	8	680	13
18		13	19	15	11	15	19		13
19			23				45		
20		13		55	15	13			17
21					17	17			15
22		38			19	30			53
	Änderung d. Zus.	ohne Cu		ohne Cu Penicill-amin 20g	30g	ohne Cu		ohne Cu	
20			17				23		
22			32	30			23		
24		17	17	17	11	11	11		17
26		21	25	17	15	13	15		19
27		13	25	25	11	15	8		11

3.3.5.4. Untersuchung der Lebertrockensubstanz auf Kupfergehalt

Der Cu-Gehalt in ppm der Lebertrockensubstanz war in allen 4 Gruppen mit Werten zwischen 1151 und 2930 ppm sehr hoch (Tab. 55).
Wie aus Tabelle 55 zu ersehen ist, liegt der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz bei Kalb 1 und Kalb 5 (beide Gruppe 1) mit 2930 bzw. 2630 ppm am höchsten. Ration 1 hatte außer Kupfer keine weiteren Zusätze. Kalb 2 und Kalb 3 (Gruppe 2), die mit Penicillamin versorgt wurden, zeigen mit einem Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz von 1635 bzw. 1151 ppm eine relativ geringe Kupfereinlagerung. Ebenso erscheint der Kupfergehalt bei Kalb 7 (Gruppe 3) mit 1466 ppm gering, während bei dem zweiten Kalb der Gruppe 3 (Zusatz von Mo) dennoch ein Kupfergehalt der Leber von 2296 ppm nachweisbar war.
Kalb 4 (Gruppe 4), das bereits am 16. Versuchstag verendete, weist einen Gehalt von 1080 ppm auf.
Das Futter war mit einem Zusatz von Calcium versehen.
Kalb 8 (Gruppe 4), ebenfalls mit einem Calciumzusatz versehen, zeigt dagegen nach Versuchsende einen Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz von 2342 ppm.

Im Verhältnis zur Gesamtkupferaufnahme (siehe Tab. 56) liegt der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz bei Kalb 1 und Kalb 5 der Gruppe 1 (Cu ohne weiteren Zusatz) bei 338 bzw. 355 $\mu g/g^2$, während bei Kalb 2 und Kalb 3 der Gruppe 2 (Zusatz von Penicillamin) der Gehalt mit 208 bzw. 140 $\mu g/g^2$ nur etwa die Hälfte beträgt. Ebenso ist der Gehalt bei Kalb 6 und Kalb 7 der Gruppe 3 (Zusatz von Mo) mit 244 bzw. 218 $\mu g/g^2$ niedriger als bei den Kälbern der Gruppe 1. Kalb 4 der Gruppe 4 (Zusatz von Ca) hatte im Verhältnis zur Gesamtkupferaufnahme einen Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz von nur 144 $\mu g/g^2$, kann jedoch nicht voll berücksichtigt werden, da es bereits am 16. Versuchstag verendete. Das zweite Kalb (Nr. 8) der Gruppe 4 liegt dagegen mit 311 $\mu g/g^2$ wesentlich über dem Gehalt der Kälber der Gruppen 2 und 3.

Tab. 55: Cu-Gehalt in ppm der Lebertrockensubstanzen

Ration	Kalb	Gehalt	Ø-Gehalt	R	Zusätze in ppm
1	1	2930	2780	300	200 Cu
	5	2630			
2	2	1635	1393	484	200 Cu
	3	1151			Penicill.
3	6	2296	1881	830	200 Cu
	7	1466			150 Mo
4	4[1)]	1080			200 Cu
	8	2342			4000 Ca

1) Kalb 4 verendete am 16. Versuchstag und wurde bei den Durchschnittswerten nicht berücksichtigt.

Tab. 56: Kupfergehalt der Lebertrockensubstanzen im Verhältnis zur Gesamtkupferaufnahme

Ration	Kalb	Gehalt (µg/g²)	Ø-Gehalt (µg/g²)	R	Zusätze in ppm
1	1	338			
	5	355	356	36	200 Cu
2	2	208			200 Cu +
	3	140	174	68	Penicill.
3	6	244			200 Cu +
	7	218	231	26	150 Mo
4	4[1)]	144			200 Cu +
	8	311			4000 Ca

1) Kalb 4 verendete am 16. Versuchstag und wurde bei den Durchschnittswerten nicht berücksichtigt.

3.4. Versuch III Juni - August 1972

In diesem Versuch sollte nochmals die Wirkung einer oralen DL-Penicillamin-Zufuhr bei bereits erkrankten Tieren geprüft werden. Dabei sollte vor allem in einem über 72 Stunden durchgeführten Bilanzversuch der Einfluß der DL-Penicillamin-Zufuhr auf die quantitative Cu-Ausscheidung über Kot und Harn untersucht werden. Schließlich waren noch eventuell unterschiedliche Einlagerungen in die Organe Gehirn, Leber und Niere zu überprüfen.

3.4.1. Versuchanlage

4 Versuchstiere wurden mit einem Milchaustauscher aus dem Handel ernährt, dem bei allen 4 Tieren 250 ppm bis 400 ppm Kupfer zugesetzt wurde. Nach einer serumanalytisch erkennbaren Erkrankung der Tiere (als Kriterium diente ein GOT-Wert von ca. 100 mU/ml Serum) wurden die 4 Versuchskälber entsprechend Tab. 57 unterschiedlich behandelt.

Tab. 57: Versuchsanlage

Versuchswoche	Futterzusätze in ppm Cu			
	Kalb 1	Kalb 2	Kalb 3	Kalb 4
1	250 Cu[1)]	250 Cu	250 Cu	250 Cu
2	250 Cu	250 Cu	250 Cu	250 Cu
3	250 Cu	250 Cu	250 Cu	250 Cu
4	250 Cu	250 Cu	250 Cu	250 Cu
5	300 Cu	300 Cu	300 Cu	300 Cu
6	300 Cu	300 Cu	300 Cu	300 Cu
7	300 Cu	300 Cu	300 Cu	300 Cu
8	400 Cu	400 Cu	400 Cu	400 Cu
9	400 Cu	400 Cu	400 Cu	400 Cu
10	400 Cu	400 Cu	400 Cu	400 Cu
11	400 Cu	400 Cu	400 Cu	400 Cu
12	400 Cu	400 Cu	400 Cu	400 Cu
1.-3.Tag	500 Cu[1)]	500 Cu	500 Cu	500 Cu
4.-7.Tag		500 Cu	-	-
		61.6 g Penicillamin[2)]	66.7 g Penicillamin[3)]	

1) Kalb 1 verendete am 4. Tag der 12. Versuchswoche.

2) Kalb 2 erhielt ab dem 4. Versuchstag der 12. Versuchswoche bei weiterer Zufuhr von 500 ppm Cu 2 Mahlzeiten mit je 9.8 g DL-Penicillamin (= 0.007 % des Körpergewichts) sowie 7 weitere Mahlzeiten mit je 4.9 g DL-Penicillamin (= 0.0035 % des Körpergewichts.

3) Kalb 3 erhielt ab dem 4. Versuchstag der 12. Versuchswoche bei Absetzen der Cu-Zufuhr 2 Mahlzeiten mit je 11.06 g DL-Penicillamin (= 0.007 % des Körpergewichts) sowie 7 weitere Mahlzeiten mit je 5.51 g DL-Penicillamin (= 0.0035 % des Körpergewichts).

Ab dem 4. Versuchstag der 12. Versuchswoche wurde über 72 Stunden ein Bilanzversuch durchgeführt, in dem die ausgeschiedenen Mengen von Kot und Harn quantitativ erfaßt werden sollten.

Die quantitative Erfassung des ausgeschiedenen Kotes war wegen erheblicher Durchfälle nicht möglich.

Die quantitative Erfassung des ausgeschiedenen Harnes wurde durchgeführt, jedoch konnten die Harnproben nicht analysiert werden, da sie bei einem Brand in der Gefrierkammer des Institutes zerstört wurden.

3.4.2. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden vom Händler 4 männliche schwarzbunte Kälber mit einer mittleren Lebendmasse von 76,5 kg gekauft. Die Kälber wurden drei Tage vor Versuchsbeginn vorsichtig angefüttert und in Lattenrostboxen gehalten.

3.4.3. Fütterung der Versuchstiere

Die Kälber erhielten Milchaustauscher aus dem Handel. Die Fütterung erfolgte individuell nach Körpergewicht (zweimal täglich um 7^{00} Uhr und 16^{00} Uhr). Die Futterzumessung ist dem Tränkplan Tab. 58 zu entnehmen.

Tab. 58: Tränkplan

Versuchs-woche	Milchaustausch-futter/Tag in % des Körpergew.	g Milchaustausch-futter/ 1 Tänke
1	1.8	150
2	2.0	170
3	2.0	200
4	2.0	200
5	2.0	200
6	2.0	220
7	2.0	220
8	2.0	230
9	2.0	250
10	2.0	250
11	2.0	260
12	2.0	260

3.4.4. Versuchskriterien

Bei den 4 Kälbern wurden wöchentlich Serumanalysen auf Cu, GOT und GPT durchgeführt. Nach Erreichen eines GOT-Wertes von ca. 100 mU/ml Serum (fast gleichzeitig bei allen Kälbern mit dem Beginn der 12. Versuchswoche) wurden die Blutanalysen bis Versuchsende täglich durchgeführt.
Die Tiere wurden wöchentlich einmal gewogen. Nach Versuchsende wurde der Kupfergehalt der Gehirn-, Leber- und Nierentrockensubstanzen bestimmt.

3.4.5. Ergebnisse

3.4.5.1. Milchaustauscheranalysen

Die verschiedenen Milchaustauscher wurden bei jeder Erhöhung des Kupferzusatzes auf ihren Kupfergehalt untersucht. Wie aus Tabelle 59 hervorgeht, entsprach der analytisch ermittelte Kupfergehalt in etwa dem Soll-Wert.

Tab. 59: Kupfergehalt im Milchaustauscher

Milchaus-tauscher	Soll ppm Kupfer	Ist ppm Kupfer	Ist:Soll Vergleich (%)
1	250	260	104
2	300	304	101
3	400	412	103
4	500	510	102

3.4.5.2. Lebendmasse und Gewichtsentwicklung

Die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme betrug bei den 4 Versuchstieren 965 g. Da jedes Kalb unterschiedlich behandelt wurde, diente die Gewichtsentwicklung lediglich zur Berechnung der Futterzufuhr, nicht jedoch als Versuchskriterium.

Tab. 60: Lebendmasse der einzelnen Versuchstiere ab Versuchsbeginn in kg

Versuchs-woche	Kalb 1	Kalb 2	Kalb 3	Kalb 4
Vers.Beg.	78.0	78.5	73.0	77.0
1	83.5	83.5	78.0	80.5
2	91.5	89.5	86.0	87.0
3	101.0	96.0	95.0	94.5
4	112.0	103.5	103.0	102.0
5	123.0	110.0	109.5	109.5
6	131.0	111.0	117.0	118.0
7	141.0	117.0	126.5	129.0
8	149.5	124.0	134.0	134.0
9	158.0	129.5	143.0	139.5
10	166.0	133.0	149.0	146.5
11	169.0	140.0	159.0	154.0
12	-	141.0	158.0	154.5

Tab. 61: Tägliche Gewichtszunahmen in g während des gesamten Versuchs

Kalb-Nr.	Gewichtszunahmen in g/Tag
1	1182
2	744
3	1012
4	923

3.4.5.3. Blutuntersuchungen

3.4.5.3.1. Serumkupferwerte

Die Serumkupferwerte lagen bis zur 12. Versuchswoche trotz sehr hoher Kupferzufuhr im physiologischen Bereich. Erst gegen Versuchsende stieg der Serumkupferwert bei Kalb 2, 3 und 4 von durchschnittlich 100 µg/100 ml Serum auf durchschnittlich 145 µg/100 ml Serum mit nur geringer Streuung, obwohl Kalb 3 und 4 zu diesem Zeitpunkt keinen Kupferzusatz mehr im Milchaustauscher erhielten.

Kalb 1 verendete am 3. Tag der 12. Versuchswoche und hatte am Tage des Exitus einen Serumkupferwert von 485 µg/100 ml.

Tab. 62: Serumkupferwerte in µg/100 ml

Versuchs-woche	Kalb 1	Kalb 2 1)	Kalb 3 2)	Kalb 4 3)
Vers.Beg.	89	98	85	96
2	92	100	91	100
3	96	114	89	106
4	97	92	95	104
5	97	85	112	99
6	102	90	110	102
7	112	98	102	103
8	110	100	98	105
9	104	96	105	105
10	108	100	107	112
11	118	98	122	107
12				
2.Tag	146	88	111	100
3.Tag	485	92	111	106
4.Tag	-	75	158	89
5.Tag	-	89	119	114
7.Tag	-	144	145	147

1) 2) 3) siehe Tabelle 57

3.4.5.3.2. Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) stieg bei den 4 Versuchskälbern trotz einer sehr hohen Kupferzufuhr (250 - 400 ppm) erst in der 11. Versuchswoche bzw. zu Beginn der 12. Versuchswoche auf einen Wert von ca. 100 mU/ml Serum.
Mit Ausnahme von Kalb 1 fiel der Wert der GOT nach Absetzen der Kupferzulage bzw. nach Zusatz von DL-Penicillamin wieder unter 100 mU/ml Serum. Bei Kalb 1 stieg der Wert kurz vor dem Tode auf 1510mU/ml Serum.

Tab. 63: GOT-Werte in mU/ ml Serum

Versuchs-woche	Kalb 1	Kalb 2 1)	Kalb 3 2)	Kalb 4 3)
Ver.Beg.	20	18	28	26
2	19	21	40	23
3	25	28	38	30
4	27	52	62	36
5	52	28	110	41
6	122	41	85	56
7	183	78	89	78
8	54	56	48	64
9	59	43	37	63
10	69	56	64	89
11	138	36	151	121
12				
2.Tag	616	98	115	72
3.Tag	1510	51	91	85
4.Tag	-	30	148	108
5.Tag	-	42	202	25
7.Tag	-	38	70	68

1)2)3) siehe Tabelle 57

3.4.5.3.3. Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Der Anstieg der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) erfolgte gegenüber der GOT etwas verzögert, verhielt sich aber ansonsten analog der GOT.
Bei Kalb 1 erreichte die GPT kurz vor dem Tode einen Wert von 276 mU/ml Serum.

Tab. 64: GPT-Werte in mU/ ml Serum

Versuchs-woche	Kalb 1	Kalb 2 1)	Kalb 3 2)	Kalb 4 3)
Vers.Beg.	5	4	4	5
2	6	4	4	6
3	4	4	6	6
4	4	9	10	6
5	4	4	12	4
6	4	7	10	10
7	4	11	15	15
8	4	9	7	11
9	4	6	5	7
10	6	9	9	9
11	4	6	26	13
12				
2.Tag	95	15	13	4
3.Tag	276	11	15	11
4.Tag	-	4	25	13
5.Tag	-	6	25	15
7.Tag	-	4	19	8

1) Ab der 12. Versuchswoche weiterhin Kupfer + Penicillamin

2) Ab der 12. Versuchswoche ohne Kupfer, aber mit Penicillamin

3) Ab der 12. Versuchswoche ohne Kupfer

3.4.5.4. Untersuchung der Lebertrockensubstanz

Die Untersuchung der Lebertrockensubstanz ergab einen deutlich niedrigeren Kupfergehalt bei den mit DL-Penicillamin versorgten Kälbern (Tab 65).

Während bei Kalb 1 (vorzeitig verendet) der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz 3165 ppm betrug und bei Kalb 4 (ab 4. Tag der 12. Versuchswoche kupferfrei ohne weiteren Zusatz) bei 2998 ppm lag, lagen die Kupferwerte der Lebertrockensubstanz bei Kalb 2 (auch in der 12. Versuchswoche weitere Zufuhr von Cu und zugleich DL-Penicillamin-Gaben) bei 1874 ppm und bei Kalb 3 (ab 4. Tag der 12. Versuchswoche kupferfrei, jedoch DL-Penicillamin-Gaben) bei 1772 ppm.

3.4.5.5. Untersuchungen der Gehirntrockensubstanz

Noch deutlicher zeigte sich der Unterschied im Kupfergehalt der Gehirntrockensubstanz (Tab. 65). Während der Kupfergehalt bei den Kälbern ohne DL-Penicillaminzufuhr bei 277 ppm (Kalb 1) bzw. 341 ppm (Kalb 4) lag, wiesen die Kälber mit DL-Penicillaminzufuhr nur einen Kupfergehalt in der Gehirntrockensubstanz von 20 ppm (Kalb 2) bzw. 16 ppm (Kalb 3) auf

3.4.5.6. Untersuchungen der Nierentrockensubstanz

Der höchste Gehalt an Kupfer liegt in der Niere von Kalb 2, das bis Versuchsende mit Kupfer belastet wurde und zusätzlich DL-Penicillamin erhielt (488 ppm). Kalb 3, ebenfalls mit DL-Penicillamin versorgt, jedoch bei Versuchsende ohne Kupferzufuhr, zeigt mit 128 ppm Cu ebenfalls einen höheren Gehalt als Kalb 1 (111 ppm) und Kalb 4 (93 ppm).

Tab. 65: Kupfergehalt der Organtrockensubstanz in ppm

Kalb-Nr.	Zusätze ab der 12. Vers.-Woche	Kupfergehalt der Organtrockensubstanz in ppm		
		Leber	Gehirn	Niere
1	-	3165	277	111
2	500 ppm Cu 61.6g Penicillamin	1874	20	488
3	66.7g Penicillamin	1772	16	128
4	-	2998	341	93

Wie Tab. 67 zeigt, verhalten sich der Gehalt an Cu in den Organtrockensubstanzen im Verhältnis zur Gesamtkupferaufnahme analog zu den absoluten Cu-Gehalten der Organtrockensubstanz.

Tab. 66: Gesamtkupferaufnahme über den gesamten Versuchszeitraum/kg Gewichtszunahme

Kalb-Nr.	Ges.-Kupferaufnahme	Kupferaufnahme/ kg Gew.Zunahme
1	76.42 g	840 mg
2	79.31 g	1269 mg
3	78.66 g	925 mg
4	78.76 g	1016 mg

Tab. 67: Kupfergehalt der Organtrockensubstanzen im Verhältnis zur Gesamtkupferaufnahme

Kalb-Nr.	Zusätze ab der 12. Vers.-Woche	Gehalt in µg /g²		
		Leber	Gehirn	Niere
1	-	41.41	3.62	1.45
2	500 ppm Cu 61.6g Penicillamin	23.62	0.25	1.18
3	66.7g Penicillamin	22.52	0.20	1.62
4	-	38.06	4.32	1.18

4. DISKUSSION

4.1. Parameter der Kupfervergiftung

4.1.1. Bestimmung des Serum-Kupfergehaltes

Wie aus den Versuchen von WEISS und BAUR (1967) zu ersehen ist, zeigt sich ein markanter Anstieg der Serumkupferwerte erst kurz vor dem Tode. Dies bestätigen auch die eigenen Versuche. Während sich der Gehalt an Serum-Kupfer auch bei hoher täglicher Kupferzufuhr über einen längeren Zeitraum nur unmerklich oder garnicht erhöht, steigt er am Tage des Todes plötzlich um ein Vielfaches des vorherigen Gehaltes. Dies erklärt sich durch einen Zerfall der Leberzellen, aus denen das bis dahin gespeicherte Kupfer plötzlich in die Blutzirkulation gelangt (ISHMAEL et. al., 1972). Somit kann der Serum-Kupfer-Gehalt lediglich unmittelbar vor dem Tode, also nach dem Auftreten der ersten klinischen Symptome als Parameter für eine Kupferintoxikation betrachtet werden. Der Serum-Kupfergehalt ist für praktische Belange - die möglichst frühe Erkennung einer Cu-Vergiftung - trotz seiner Spezifität ein wenig brauchbarer Parameter, da er zu spät reagiert.

4.1.2. Bestimmung des Serum-Eisengehaltes

Die in Versuch I über einen Zeitraum von 12 Wochen ermittelten Eisenwerte liegen mit einem am Versuchsende durchschnittlichen Gehalt von 127 µg/100 ml Serum (Ration 7 mit einem Zusatz von 40 ppm Fe ist nicht berücksichtigt) im Verhältnis zur Fe-Versorgung von ca. 14 mg Fe/kg Milchaustauschfutter relativ hoch. Dies läßt sich aus einem Vergleich mit Daten einer Literaturübersicht zur Eisenversorgung von Kälbern (BOEHNCKE/GROPP, 1979) ableiten. Diese mangelnde Übereinstimmung findet durch eine als zweite " Eisenquelle " dienende Stroheinstreu eine brauchbare Erklärung. Als Parameter für die Kupfervergiftung ist der Serum-Eisengehalt verhältnismäßig unspezifisch. Nur während der hämolytischen Phase kurz vor dem Tode stieg bei einem Versuchskalb der Serum-Eisengehalt auf 977 µg/100 ml Serum, was auf eine teilweise Zerstörung der Erythrozyten durch das aus der Leber freigesetzte Kupfer und eine Fe-Ausschwemmung aus der Leber zurückzuführen sein dürfte.

4.1.3. Bestimmung der Serum-Transaminasen

In Übereinstimmung mit Versuchen von GOPINATH und HOWELL (1975) ist in den eigenen Untersuchungen ein stetiger Anstieg der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase sowie der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase zu beobachten. Der Anstieg der GOT ist ebenso wie der Anstieg der GPT, der jedoch etwas verzögert ist, bereits vor Auftreten der klinischen Symptome zu beobachten. Während der hämolytischen Phase kurz vor dem Tode steigen beide Transaminasen bis über das 10-fache ihres physiologischen Normwertes. Durch die Bestimmung dieser Transaminasen ist eine Leberzellschädigung relativ früh erkennbar, so daß sie als Parameter für die Erkennung einer Kupfervergiftung eine bedeutende Rolle haben, obwohl sie die Ursache der Zellenschädigung nicht wiedergeben.

4.1.4. Bestimmung des Cu-Gehaltes in der Leber

Entscheidendster und sicherster Parameter für eine Kupfervergiftung (und die Kupferversorgung) ist nach eigenen und der Literatur entnehmbaren Untersuchungen der Cu-Gehalt der Leber. Eigene Untersuchungen ergaben, daß der Cu-Gehalt der Leber-

trockensubstanz bei " normal " ernährten Kälbern der Kontrollgruppe in Versuch I (ca. 2 mg Cu/kg Milchaustauschfutter) bei etwa 130 ppm liegt. Zu gleichen Ergebnissen kamen auch GOPINATH und HOWELL (1975) beim Schaf. Obwohl in den vorliegenden Versuchen keine Verlaufsuntersuchungen vorgenommen werden konnten, wird erwartet, daß der Leberkupfergehalt auch als Frühindikator tauglich ist. Entsprechende Probenentnahmeverfahren (Leberbiopsie) müßten im Hinblick auf die Cu-Analytik noch überprüft werden.

4.2. Kupfer-Kumulation im Futter und Eintritt der Kupfervergiftung

Es steht außer Frage, daß beim Mastkalb eine Kupferzufuhr von 50 bis 100 mg/kg Futter nach ca. 3 Monaten zu einer chronischen Kupfervergiftung führt. Dies konnte auch in Versuch I bestätigt werden. Den eigenen Untersuchungen ist zu entnehmen, daß weibliche Höhenfleckviehkälber offensichtlich weniger Cu tolerieren als männliche schwarzbunte Kälber. Während in Versuch II weibliche Höhenfleckviehkälber bei einer Kupferzufuhr von 200 mg Cu/kg Futter bereits nach 16 bis 22 Tagen eine klinisch manifeste

Kupfervergiftung zeigten und auch der Gehalt an Kupfer in der Lebertrockensubstanz bereits nach 22 Tagen Kupferzufuhr (ohne andere Zusätze) 2780 ppm betrug, wurden in Versuch III männlichen schwarzbunten Kälbern über einen Zeitraum von 12 Wochen Kupfermengen von mehr als 300 mg/kg Futter zugeführt, bis klinisch erfaßbare schwere Leberschädigungen vorlagen. Der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz bei den männlichen schwarzbunten Kälbern betrug nach dieser langen hohen Zufuhr von Kupfer 3165 und 2998 ppm, also nicht bedeutend mehr als der vergleichbare Wert der weiblichen Kälber in Versuch II. Das heißt aber, daß eine höhere Kupfertoleranz von schwarzbunten Kälbern sich nicht durch eine höhere Speicherungsfähigkeit in der Leberzelle begründen ließe. Damit scheinen bei Mastkälbern ähnliche rasseabhängige Unterschiede in der Kupfer-Toleranz aufzutreten, wie sie bei Schaflämmern bekannt sind.

4.3. Beeinflussung der Cu-Vergiftung durch Molybdän, Sulfat, Eisen und Calcium

Die in der Literatur beschriebenen guten Ergebnisse der Beeinflussung der Kupferintoxikation beim Wieder-

käuer durch Zusätze von Molybdän und Sulfat konnten in den eigenen Untersuchungen am Mastkalb nur bedingt bestätigt werden. In Versuch I zeigte sich weder serumanalytisch noch im Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz ein manifester Einfluß der Mo- und SO_4-Zusätze, während in Versuch II sich bei einem erhöhten Molybdän-Zusatz von 150 ppm eine verminderte Kupfereinlagerung in die Leber feststellen läßt. Die Beeinflussung der Kupferintoxikation durch Mo-Zusätze scheint aufgrund der Ergebnisse aus Versuch I und Versuch II dosisabhängig zu sein, da in Versuch I die Mo-Zufuhr nur 10 bis maximal 40 ppm betrug. In Versuch II beträgt der Cu-Gehalt der Lebertrockensubstanz bei den beiden mit 150 ppm Mo versorgten Kälbern nur 2296 bzw. 1466 ppm, während der Gehalt bei den nicht mit Molybdän versorgten Kälbern bei 2930 bzw. 2630 ppm liegt.

Der Zusatz von Sulfat zeigte in Versuch I keinerlei Einfluß auf die Kupferintoxikation beim Mastkalb, was sich mit Angaben von SUTTLE (1974a) deckt, nach denen Sulfat nur beim Wiederkäuer den Cu-Mo-Antagonismus potenziert. Bei Monogastriern (also auch beim Mastkalb, das funktionell nicht zu den Wiederkäuern zählt) kann nach SUTTLE der Cu-Mo-

Antagonismus durch Sulfat sogar abgeschwächt werden. Dies erklärt sich durch ein Konkurrenzverhalten von Sulfat und Molybdän bei der Aufnahme aus dem Darm, so daß bei der Anwesenheit von Sulfat weniger Mo in den Organismus gelangt. Bei Wiederkäuern dagegen wird Sulfat in Sulfid umgewandelt und anschließend intensiv durch die Pansenwand absorbiert. Nach MILLS et al. (1978) bilden Pansen-Mikroorganismen aus Molybdat und Sulfid sogenannte Thiomolybdate, die den Kupferstoffwechsel beeinflussen.

Der Zusatz von 40 mg Fe/kg Futter zeigt keinen Einfluß auf die Kupfervergiftung. Ein Zusatz von 4000 mg Ca/kg Futter bei einer Kupferzufuhr von anfangs 50 ppm Kupfer und im letzten Drittel des ersten Versuches von 100 ppm schien dagegen die Folgen einer erhöhten Cu-Zufuhr zu mildern. Die Erhöhung der GOT und GPT im Serum der Versuchskälber war relativ gering im Vergleich zu den anderen, ebenso der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz mit durchschnittlich 1227 ppm gegenüber dem Durchschnitt der anderen Gruppen mit 2093 ppm. Bei Wiederkäuern ist eine Interaktion zwischen Kupfer und Calcium seit längerem bekannt (WIESNER, 1970). Im Widerspruch zu dem in Versuch I gefundenen Er-

gebnis weisen jedoch WIESNER sowie HODGE und PALMER (1973) daraufhin, daß bei Monogastriern kein Einfluß einer erhöhten Ca-Gabe auf die Kupfervergiftung erwartet werden kann. Deshalb wurde die Fragestellung in Versuch II an Mastkälbern erneut geprüft. Bei erhöhter Cu-Zufuhr von 200 mg/kg Futter konnte durch einen Ca-Zusatz von 4000 mg/kg Futter kein Einfluß auf die Kupfervergiftung festgestellt werden. Es bleibt daher - auch in Anbetracht der relativ geringen Tierzahlen - offen, ob Ca den Verlauf der Cu-Intoxikation beim pseudomonogastrischen Mastkalb überhaupt beeinflußt oder ob eine Einwirkung von einem bestimmten Ca:Cu-Verhältnis abhängt.

4.4. Beeinflussung der Cu-Vergiftung durch DL-Penicillamin

Die deutlichste Veränderung des Cu-Status von Mastkälbern bei überhöhter Cu-Zufuhr hatte die Gabe von DL-Penicillamin zur Folge. In zwei Versuchen wurde nach DL-Penicillamin-Gaben bei bereits an Cu-Vergiftung klinisch erkrankten Tieren eine Abschwächung der " Symptome " (erhöhte Serum-Transaminasen) beobachtet.

In Versuch II wurden insgesamt 8 Tiere mit einem Kupfergehalt von 200 mg/kg Futter belastet. Bei

allen Versuchstieren stellten sich nach 18 bis 22 Tagen erhöhte Serumtransaminasentätigkeiten ein. Von diesem Zeitpunkt an wurden alle 8 Versuchstiere ohne Kupferzusatz bis zum 27. Versuchstag weiterernährt. Zwei Kälber erhielten nach Absetzen der Kupferzufuhr insgesamt 20 bzw. 30 g Penicillamin über den Milchaustauscher in vier bzw. sechs aufeinanderfolgenden Mahlzeiten. Der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz betrug bei den nicht mit DL-Penicillamin behandelten Tieren im Durchschnitt 2333 ppm, bei den mit DL-Penicillamin versorgten Kälbern am 3. bzw. 5. Tag nach Behandlungsbeginn 1393 ppm.

Ebenso zeigte DL-Penicillamin in Versuch III, bei dem neben der Lebertrockensubstanz auch der Kupfergehalt in Gehirn und Niere ermittelt wurde, einen gravierenden Einfluß auf die Kupferspeicherung in den einzelnen Organen. DL-Penicillamin bewirkt eine starke Ausschwemmung von Kupfer aus den betroffenen Organen (hier Leber und Gehirn). Das freigesetzte Kupfer wird über den Harn ausgeschieden (HOLTZMAN et al., 1966).

Eigene Untersuchungen an 4 männlichen schwarzbunten Kälbern, die über einen Zeitraum von 11 Wochen

mit einem Kupfergehalt von anfangs 250 bis schließlich 500 mg Cu/kg Futter belastet wurden, ergaben bei den Organanalysen der einzelnen Kälber eindeutige Einflüsse einer DL-Penicillaminzufuhr auf den Kupfergehalt.

Während bei den zwei nicht mit DL-Penicillamin behandelten Tieren der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz 3165 bzw. 2998 ppm betrug, lag er bei den beiden mit durchschnittlich 57 g DL-Penicillamin versorgten Tieren nur bei 1874 bzw. 1772 ppm. Noch gravierender zeigte sich der Einfluß der DL-Penicillaminzufuhr im Kupfergehalt der Gehirntrockensubstanz, die bei den unbehandelten Kälbern bei 277 bzw. 341 ppm lag, während die mit DL-Penicillamin gefütterten Tiere nur einen Gehalt von 20 bzw. 16 ppm aufwiesen.

Umgekehrt verhielt sich der Kupfergehalt der Nierentrockensubstanz. Die beiden nicht mit Penicillamin behandelten Tiere weisen einen Gehalt von 111 bzw. 93 ppm Kupfer auf, während Kalb 2, das auch noch zum Zeitpunkt der Penicillaminbehandlung weiterhin eine Zufuhr von 500 mg Cu/kg Futter erhielt, einen Cu-Gehalt in der Nierentrockensubstanz von 488 ppm hatte. Das zweite mit Penicillamin versorgte Kalb,

bei dem die Kupferzufuhr wie bei beiden Kälbern der Kontrollgruppe abgebrochen wurde, zeigte mit einem Kupfergehalt in der Niere von 128 ppm keine besondere Abweichung. Der erhöhte Kupfergehalt in der Niere bei den mit Penicillamin behandelten Tieren läßt sich als Hinweis auf oben erwähnte verstärkte renale Kupferausscheidung vermuten.

Das Ergebnis dieser Untersuchung ermutigt zu einem Therapievorschlag. Bei Verdacht auf Kupfervergiftung von Mastkälbern, der durch eine Untersuchung der Leber eines toten Kalbes auf Kupfergehalt - eventuell könnte in akuter Zeitnot eine makroskopisch erkennbare Leberdystrophie mit Verfärbung ausreichend sein -manifestiert werden kann, bietet sich eine sofortige Untersuchung der Serum-Transaminasen der weiteren erkrankten Tiere des Bestandes an. Neben Abstellung der Ursache durch Futterwechsel sollte an erkrankte Tiere die orale Zufuhr von ca. 30 bis 60 g Penicillamin verteilt über mehrere (6 bis 10) Mahlzeiten erfolgen. Dieser Hinweis ist nicht als Empfehlung für eine " Faustregeltherapie " zu verstehen, er ist vielmehr gedacht als Aufforderung an die Kliniken zu kritischer Prüfung und Abklärung von Menge und Applikationshäufigkeit.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In drei Versuchen an insgesamt 45 Mastkälbern wurde Verlauf und Ausprägung der Kupferintoxikation in Abhängigkeit von zusätzlichen Gaben von Molybdän, Sulfat, Calcium, Eisen und DL-Penicillamin untersucht.

Als aussagefähige Kriterien einer chronischen Kupferintoxikation erwiesen sich die Kupferkonzentration in Leber, Gehirn, Niere und Blutserum sowie die Serum-Transaminasen GOT und GPT. In der prähämolytischen Phase bieten sich allein die Serum-Transaminasen als leicht zugängliche Kriterien einer beginnenden Leberschädigung durch Kupfer an. Langfristige Versorgung von Kälbern mit Kupfer zwischen 50 und 200 mg/kg Milchaustauschfutter führte zu chronischer Kupfervergiftung. Schwarzbunte Kälber sind möglicherweise weniger empfindlich als Höhenfleckviehtiere.

Zusätze von Sulfat (2000 ppm) sowie Fe (40 ppm) zum Futter vermochten die Kupfertoleranz von Mastkälbern nicht zu beeinflussen, ebenso wie Zusätze von 10 bis 40 ppm Mo. Jedoch war die Einlagerung von Cu in die Leber bei einem Mo-Gehalt von 150 ppm im Milchaustauschfutter verringert. Calcium (0,4% Zusatz) zeigte in Versuch I, nicht dagegen in Versuch II eine Wirkung (reduzierte Cu-Speicherung in

der Leber).

Der Kupfergehalt der Lebertrockensubstanz stieg bei Cu-Überversorgung bis auf ca. 3000 ppm an. (Kontrollwerte bei 2 - 4 ppm Cu im Futter lagen zwischen 90 und 200 ppm. Die individuelle Streuung war beträchtlich). Nach 9 Wochen Fütterung mit 50 bis 100 ppm Cu im Futter und zusätzlichen 3 Wochen mit 100 bzw. 200 ppm Cu ergaben sich als Mittelwerte 1827 (n=18, s=460) bzw. 2276 (n=12, s=1000) ppm.

Die Serumwerte für GOT und GPT stiegen in der hämolytischen Krise unmittelbar vor dem Exitus letalis bis auf 1100 - 1800 bzw. 280 - 680 mU/ml an (n=3). Der Normalbereich dürfte für GOT bei 10 - 40, für GPT bei 4 - 12 mU/ml Serum anzusetzen sein. GPT-Werte von mehr als 100 mU/ml erwiesen sich als brauchbares Kriterium für den Beginn der hämolytischen Phase.

Die jeweilige perorale Gabe von 35 - 70 mg DL-Penicillamin/kg Lebendmasse über 4 - 9 Mahlzeiten bewirkte einen drastischen Rückgang der Cu-Speicherung in der Leber (Versuch II und III). Bereits nach 5 Tagen betrug die Cu-Konzentration in der Lebertrockensubstanz nur 1608 ppm (n=4, s=320), der vergleichbare Kontrollgruppenwert lag bei 2931 ppm

(n=4, s=223).

Die Verwendung von Penicillamin in der Bestandstherapie bei Kupfervergiftung sollte deshalb einer kritischen klinischen Prüfung unterzogen werden.

6. SUMMARY

In three experiments on a total of 45 veal calves course and effect of copper intoxication in dependence of supplements of molybdenum, sulphate, calcium, iron and DL-penicillamine alone or in combination was studied.

Copper concentration in liver, brain, kidney and plasma as well as serum-transaminases GOT and GPT proved to be predicatory criterions of chronic copper intoxication. Only serum-transaminases present themselves to be available criterions of a beginning liver cell damage by copper. A long lasting supply of calves with copper between 50 and 200 mg/kg milk replacer led to a chronic copper intoxication.

Feed supplementation with sulphate (2000 ppm) as well as Fe (40 ppm) couldn't influence the copper tolerance of veal calves, 10 - 40 ppm Mo were ineffective, too. But the storage of Cu in the liver was diminished with 150 ppm in the milk replacer. Calcium (0,4% supplement) showed only in experiment I, but not during experiment II some effect (reduced Cu-accumulation in the liver).

The copper concentration of the liver dry matter

increased corresponding to the Cu uptake up to about 3000 ppm (control values with 2 - 4 ppm dietary Cu were between 90 and 200 ppm). The individual deviation was remarkable. Mean values of 1827 (n=18, s=460) and 2276 (n=12, s=1000) ppm were measured after 9 weeks feeding period with 50 and 100 ppm Cu and additional 3 weeks with 100 and 200 Cu respectively.

During the hemolytic phase the serum values of GOT and GPT increased right before the exitus letalis to 1100 - 1800 and 280 - 680 mU/ml (n=3) respectively. Normal values might be in a range between 10 - 40 for GOT, and 4 - 12 mU/ml for serum for GPT. GPT values higher than 100 mU/ml proved to be a useful criterion for the beginning of the hemolytic phase.

The respective perorale treatment with 35 - 70 mg DL-penicillamine/kg live weight during 4 - 9 meals caused a remarkable decline of the Cu-accumulation in the liver(experiment II and III). Already after 5 days the Cu-concentration of the liver dry matter amounted only to 1608 ppm (n=4, s=320), the comparable value of the control group was of the order of 2931 ppm (n=4, s=223).

Therefore the use of penicillamine for therapy of Cu-intoxication of cattle should be clinically examined further on.

LITERATUR

ANKE,M.,M.GRÜN,M.HOFFMAN und A.DITTRICH,1976: Untersuchungen zur Mineralstoffversorgung in der intensiven Lämmermast
Wiss.Z.d.Karl-Marx-Univ. Leipzig, Math.-Naturwiss. Reihe 25, 271 - 279

ARORA,R.G.,L.ANDERSON,R.S.BUCHT,A.FRANK und T. KRONEVI,1977: Chronic copper toxicosis in sheep
Nord.Vet.-Med. 29, 181 - 187

BAUR,P.1967: Dissertation Universität München, tiermed. Fakultät, Abt. für Pathologie

BEHRENS,H.,1977: Chronische Kupfervergiftung beim Schaf
Prakt. Tierarzt 58, 720 - 721

BINGLEY,J.B.,1974: Effects of high doses of molybdenum and sulphate on the distribution of copper in plasma and in blood of sheep
Austr.J.Agric.Res. 25, 467 - 474

BIRKER,P.J.M.W.L.,H.C.FREEMAN and J.A.M.RAMSHAW, 1978: The urinary excretion of copper during D-penicillamine therapy
in: M.Kirchgessner (Ed.): Trace element metabolism in man and animals - 3 Freising - Weihenstephan

BOEHNCKE,E.und GROPP,J.,1979: Zur Eisenversorgung des Mastkalbes, 1. Mitteilung: Beurteilung der Eisenversorgung (Literaturübersicht)
Bayr. landwirtschaftliches Jahrbuch (im Druck)

BREMNER ,I.,1976: The effect of dietary molybdenum and sulphate om plasma copper distribution in sheep
Proc.Nutr.Soc. 35, 21A - 22 A

BRENNER,K.V.,1975: Zum Auftreten von Kupfervergiftungen bei Schafen nach Trockenfütterung
Mhfte.Vet.Med. 30, 691 - 695

BRENNER,K.V. und H.Gürtler,1977: Zum Kupferstatus von Schafen anhand von Organanalysen
Mhfte.Vet.Med. 32, 245 - 248

CAMPELL,A.G.,M.R.COUP,W.H.BISHOP und D.E.Wright, 1974: Effect of elevated iron intake on the copper status of grazin cattle
N.Z.J.Agric.Research 17, 393 - 399

CASE,A.A.,1974: Toxicity of various chemical agents to sheep
J.Amer.Vet.Med.Ass, 164, 277 - 283

CLAYPOOL,D.W.,F.W.ADAMS,H.W.PENDELL,N.A.HARTMANN und J.F.BONE,1975: Relationship between the level of copper in the blood plasma and liver of cattle
J.Anim.Sci. 41, 911 - 914

DICK,A.T.,D.W.DEWEY und J.M.GWATHORNE,1975: Thiomolybdates and the copper-molybdenum-sulphur-interaction in ruminant nutrition
J.agric.Sci. 85, 567 - 568

DRESSLER,D.,1971: Mineralische Elemente in der Tierernährung
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

DÜRR,F.H.,1977: Zur Chemie von D-Penicillamin
in: D-Penicillamin
F.K.Schattauer Verlag, Stuttgart und New York

FORTH,W.,1974: Iron absorption, a mediated transport across the mucosal epithelium
in: Trace element metabolism in animals - 2
University Park Press, Baltimore, London, Tokio

FRIEDEN,E.1978: Ceruloplasmin, a multifunctional metalloprotein
in: M.Kirchgessner (Ed.): Trace element metabolism in man and animals - 3
Freising - Weihenstephan

GOPINATH,C. und J.C.HOWELL,1975: Experimental chronic copper toxicity in sheep. Changes that follow the cessation of dosing at the onset of haemolysis
Res.vet.Sci. 19, 35 - 43

GOPINATH,C.,G.A.HALL und J.C.HOWELL,1974: The effect of chronic copper poisoning on the kidneys of sheep
Res.vet.Sci. 16, 57 - 69

GRÜN,M.,M.ANKE,A.HENNING,W.SEFFNER,M.PARTSCHEFELD, G.FLACHOWSKY und B.GROPPEL,1978: Überhöhte Eisengaben an Schafe
Arch.Tierernährg. 28, 341 - 347

HAPKE,H.J.,1975: Toxikologie für Veterinärmediziner
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

HILL,R.1977: Copper toxicity
Br.vet.J. 133, 219 - 224 und 365 - 373

HODGE,R.W. und N.C.PALMER,1973: The effects of calcium intake in the pre-ruminant lamb on body magnesium and liver copper levels
Austr.Vet.J. 49, 369 - 372

HOGAN,K.G.,D.F.L.MONEY,D.A.WHITE und R.WALKER,1971: Weight responses of young sheep to copper, and connective tissue lesions associated with the grazing of pastures of high molybdenum content
N.Z.J.Agric.Res. 14, 687 - 701

HOGAN,K.G.,D.F.L.MONEY und A.BLAYNEY,1968: The effect of a molybdate and sulphate supplement on the accumulation of copper in the livers of penned sheeps
N.Z.J.Agric.Res. 11, 435 - 444

HOLTZMAN,N.A.,D.A.ELLIOT und R.H.HELLER,1966: Copper intoxication
New Engl.J.Med. 275, 347 - 352

HOWELL,J.C.,1978: The pathology of chronic copper poisoning in sheep
in: M.Kirchgessner (Ed.): Trace element metabolism in man and animals - 3
Freising- Weihenstephan

HUBER,J.T. und N.O.PRICE,1971: Influence of high dietary calcium and phophorus on Ca: P ratio on liver copper and iron stores in lactating cows
J.Dairy Sci. 54, 429 - 432

HUISINGH,J.,G.G.GOMEZ und G.MATRONE,1973: Interactions of copper, molybdenum and sulfate in ruminant nutrition
Fed.Porc. 32, 1921 - 1924

ISHMAEL,J.,C.GOPINATH und J.C.HOWELL,1972: Experimental chronic copper toxicity in sheep
Res.vet.Sci. 13, 22 - 29

ISHMAEL,J. und C. GOPINATH,1972: Effect of a single small dose of inorganic copper on the liver of sheep
J.Comp.Path. 82, 47 - 58

KAMMACHER,D.,1977: Chelatbildung
in: D-Penicillamin
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart und New York

LANGE,J.,1977: Morbus Wilson, Schwermetallvergiftungen und ihre Behandlung mit D-Penicillamin
in: D-Penicillamin
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart und New York

MARCILESE,N.A.,C.B.AMMERMAN,R.M.VALSECCHI,B.G. DUNAVANT und G.K.DAVIS,1969: Effect of dietary molybdenum and sulfate upon copper metabolism in sheep
J.Nutr. 99, 177 - 183

MARCILESE,N.A.,C.B.AMMERMAN,R.M.VALSECCHI,B.G. DUNAVANT und G.K.DAVIS,1970: Effect of dietary molybdenum and sulfate upon urinary excretion of copper in sheep
J.Nutr. 100, 1399 - 1406

MILLS,C.F.,I.BREMNER,T.T.EL-GALLAD,A.C.DALGARNO und B.W.YOUNG,1978: Mechanisms of the molybdenum/sulphur antagonism on copper utilisation by ruminants
in: Trace element metabolism in man and animals - 3
Freising-Weihenstephan

MYLREA,P.J. und D.T.Byrne,1974: An outbreak of acute copper poisoning in calves
Austr.Vet. 50, 169 - 172

POPE,A.L.,1975: Mineral interrelationships in ovine nutrition
J.Americ.Vet.Med.Ass. 166, 264 - 268

SCHÜTTMANN,W.,1966: Die moderne Behandlung der Metallvergiftungen
Z.ges.Innere Med. 21, 1 - 7

SMITH,B.S.W. und H.WRIGHT,1973: The effect of dietary molybdenum and sulphate on the binding of copper in sheep plasma
Proc.Nutr.Soc. 32, 25A - 26A

SMITH,B.S.W. und H.WRIGHT,1975: Copper-molybdenum interaction
Effect of dietary molybdenum on the binding of copper to plasma proteins in sheep
J.Comp.Path. 85, 299 - 305

SOURKES,T.L.,1970: Factors affecting the concentration of copper in the liver ot the rat
in: Trace metabolism in animals - 1
E. & S. Livingstone, Edinburgh und London

SUTTLE,N.F.,1974a: Recent studies of the copper-molybdenum antagonism
Proc.Nutr.Soc.33, 299 - 305

SUTTLE,N.F.,1974b: Effects of organic and inorganic sulphur on the availability of dietary copper to sheep
Br.J.Nutr. 32, 559 - 568

SUTTLE,N.F.,1975: The role of organic sulphur in the copper-molybdenum-S-interrelationship in ruminant nutrition.
Br.J.Nutr. 34, 411 - 420

SUTTLE,N.F.,1977: Reducing the potential copper toxicity of concentrates to sheep by the use of molybdenum and sulphur supplements
Anim.Feed Sci.Technol. 2, 235 - 246

SUTTLE,N.F. and A.C.FIELD,1970: Effects of dietary calium and phosphorus concentrations on the faecal excretion of copper, manganese and zinc in sheep
Proc.Nutr.Soc. 29, 33A - 34A

SUTTLE,N.F. and A.C.FIELD,1974: The effect of dietary molybdenum on hypocupraemic ewes by subcutaneous copper
Vet.Rec. 95, 166 - 169

THOMPSON,R.H. und J.R.TODD,1974: Muscle damage in chronic copper poisoning in sheep
Res.vet.Sci. 16, 97 - 99

TODD,J.R.,1969: Chronic copper toxicity for ruminants
Proc.Nutr.Soc. 28, 189 - 198

UNDERWOOD,E.J.,1971: Trace elements in human and animal nutrition, 3. Aufl.
Academic Press, New York und London

VAN DER BERG,R. und W.VAN DER SCHEE,1973: Prevention of chronic copper poisoning in sheep, addition of molybdenum and sulphate to concentrates
Tijschr.Diergeneesk. 98, 328 - 334

WIENER,G.,S.HAYTER,A.C.FIELD und N.S.M.MACLEOD, 1974: Copper levels in liver and brain of dead lambs in relation to breed, age to death and cause of death
J.Comp,Path. 84, 27 - 38

WIESNER,E.,1970: Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

Weiss, E.P., Baur, P. und P. Plank: Die chronische Kupfervergiftung des Mastkalbes.
Vet.med. Nachr. H. 1, 35-51 (1967)

Besonders möchte ich hiermit Herrn Prof. Dr. J. Gropp danken für die Überlassung des Themas, für seine hilfsbereite Unterstützung und seine wertvollen Anregungen.

Zugleich danke ich Herrn Prof. em. Dr.Dr.Dr.h.c. mult. J. Brüggemann und dessen Nachfolger Herrn Prof. Dr. H. Zucker für die Überlassung von Arbeitsmöglichkeiten.

Nicht zuletzt gilt auch mein Dank Herrn Prof.Dr.E. Boehncke für die hilfsbereite Unterstützung im experimentellen und theoretischen Teil.

LEBENSLAUF

Am 3. April 1947 wurde ich, Karl-Heinz Maier, als Sohn des Polizeibeamten Karl Maier und seiner Ehefrau Thea, geb. Schmied, in Deggendorf geboren.

Meine 4-jährige Volksschulzeit verbrachte ich in Pfarrkirchen. Im Herbst 1957 trat ich in das humanistische Gymnasium in Pfarrkirchen ein, an dem ich im Sommer 1967 mit dem Abitur meine Schulausbildung abschloß.

Im Wintersemester 1967/68 immatrikulierte ich mich an der Universität München für das Studium der Tiermedizin. Hier bestand ich im Frühjahr 1973 das Staatsexamen und erhielt am 21. September des gleichen Jahres meine Approbation.

Seit November 1974 übe ich meinen Beruf in eigener Praxis in Straubing aus.